



**SKRIPSI – TK 141581**

**PENGARUH JENIS SOLVEN TERHADAP  
PEMISAHAN XANTHONE DAN COUMARIN PADA  
CRUDE EKSTRAK DAUN NYAMPLUNG  
(*Calophyllum inophyllum*)**

**Oleh :**

**Agustina Borhet**

**NRP. 2314 105 019**

**Zulfira Tri Lutfiani**

**NRP. 2314 105 046**

**Dosen Pembimbing :**

**Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D**

**NIP. 1976 03 23 2002 12 1001**

**Hakun Wirawasista Aparamarta, S.T., M.MT., Ph.D**

**NIP. 1978 09 22 2008 12 1001**

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2017**



**FINAL PROJECT – TK 141581**

**INFLUENCE SOLVENT TYPE OF SEPARATION  
XANTHONE AND COUMARIN FROM  
NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum*) LEAF  
CRUDE EXTRACT**

**By :**

**Agustina Borhet**

**NRP. 2314 105 019**

**Zulfira Tri Lutfiani**

**NRP. 2314 105 046**

**Academic Advisor :**

**Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D**

**NIP. 1976 03 23 2002 12 1001**

**Hakun Wirawasista Aparamarta, S.T., M.MT., Ph.D**

**NIP. 1978 09 22 2008 12 1001**

**DEPARTMENT OF CHEMICAL ENGINEERING  
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY  
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY  
SURABAYA  
2017**

## LEMBAR PENGESAHAN

### **“PENGARUH JENIS SOLVEN TERHADAP PEMISAHAN XAMTHONE DAN COUMARIN PADA CRUDE EKSTRAK DAUN NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum*)”**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Teknik pada Program Studi S-1 Jurusan Teknik Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh :

**Agustina Borbet**      **2314105019**  
**Zulfira Tri Lutfiani**      **2314105046**

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir:

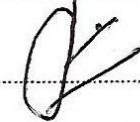
1. Setiyo Gunawan, ST., Ph.D  
(Pembimbing 1)

(.....)

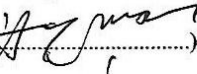
2. Hakun Wirawasista Aparamarta, ST., MMT  
(Pembimbing 2)

(.....)

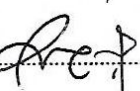
3. Prof.Dr.Ir. Tri Widjaja, M.Eng  
(Penguji 1)

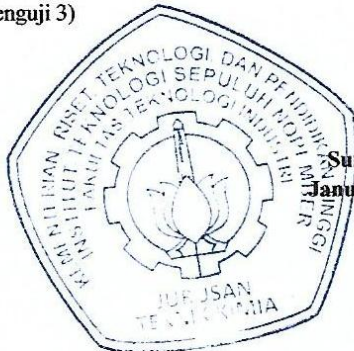
(.....)

4. Dr. Eng. R. Darmawan, ST., MT  
(Penguji 2)

(.....)

5. Donny Satria Bhuana, ST.,M.Eng  
(Penguji 3)

(.....)



Surabaya  
Januari, 2017

**PENGARUH JENIS SOLVEN TERHADAP  
PEMISAHAN XANTHONE DAN COUMARIN PADA  
CRUDE EKSTRAK DAUN NYAMPLUNG  
(*Calophyllum inophyllum*)**

**Nama** : 1. Agustina Borhet (2314 105 019)  
2. Zulfira Tri Lutfiani (2314 105 046)  
**Pembimbing** : Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D  
Hakun Wirawasista A, S.T., M.MT., Ph.D  
**Departemen** : Teknik Kimia FTI-ITS

**ABSTRAK**

Tanaman Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) memiliki berbagai manfaat yang dapat dimanfaatkan mulai dari akar, batang, daun, hingga biji. Daun nyamplung mengandung banyak komponen bioaktif diantaranya xanthone dan coumarin yang bermanfaat sebagai penghambat aktivitas enzim dari HIV-1. Untuk mengisolasi komponen bioktif dari daun nyamplung, perlu dilakukan pemisahan antara kandungan polar dan non-polarnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui cara pemisahan senyawa xanthone dan coumarin serta mengetahui pengaruh jenis solven terhadap pemisahan senyawa xanthone dan coumarin yang terkandung dalam fraksi polar crude daun nyamplung. Crude ekstrak daun diperoleh dengan metode perkolasi. Lalu dilakukan pemisahan xanthone dan coumarin dengan metode LLE (*Liquid – liquid Extraction*). LLE dilakukan dengan pelarut methanol kombinasi dengan air (polar) dan hexane (non-polar) dengan rasio pelarut 150:150 (gr/gr). Konsentrasi methanol yang digunakan adalah 20%, 50% dan 80% dan 99,98%. Fraksi polar dan non-polar diuji secara kualitatif menggunakan TLC (*Thin Layer Chromatography*) dan secara kuantitatif menggunakan GC untuk menganalisa kadar xanthone dan coumarin. Dari hasil penelitian, didapatkan hasil terbaik

untuk pemisahan xanthone dan coumarin pada variabel 3000 mg *crude* ekstrak daun nyamplung dengan perbandingan pelarut polar (methanol-air) 150 gr : pelarut non-polar (heksane) 150 gr adalah pada penggunaan konsentrasi methanol 50% dengan % total recovery coumarin pada fraksi methanol sebesar 81,18,% dan % total recovery xanthone pada fraksi heksane sebesar 81,91%. secara *multiple extraction* sebanyak 6 kali.

***Kata kunci:*** coumarin, LLE, nyamplung, solvent , xanthone.

# **INFLUENCE SOLVENT TYPE OF SEPARATION XANTHONE AND COUMARIN FROM NYAMPLUNG (*Calophyllum inophyllum*) LEAF CRUDE EXTRACT**

**Name** : 1. Agustina Borhet (2314 105 019)  
2. Zulfira Tri Lutfiani (2314 105 046)  
**Advisor** : Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D.  
Hakun Wirawasista A, S.T., M.MT., Ph.D  
**Department** : Teknik Kimia FTI-ITS

## **Abstract**

Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) having benefits that can be used from roots, stems, leaves, to seed. Leaves nyamplung containing many components bioactive including xanthone and coumarine useful as an impediment to the activity of the of Hiv-1. To isolate bioactive component from nyamplung leaves, need to be separated between the polar and non-polar component. The purpose of this study is to know how to isolate compound xanthone and coumarin and knows the impact of solvent type of separation compound xanthone and coumarin contained in the polar crude leaves nyamplung. Crude extract leaves obtained by percolation method. Then be separated xanthone and coumarine with the LLE (Liquid Liquid Extraction). LLE done with solvent methanol combine with water (polar) and hexane (non-polar) with ratio solvent: 150:150 (gr/gr). Concentration of methanol used is 20 %, 50 % and 80 % and 99,98 %. The polar and non-polar qualitatively analyze using TLC (Thin Layer Chromatography) and quantitatively using GC to analyze xanthone levels and coumarine. The research, get the best result for the separation xanthone and coumarin on the crude 3000 mg extract leaves nyamplung with ratio of solvent polar (methanol-water) 150 gr : solvent non-polar (heksane) 150 gr is on the use of concentration methanol 50 % with % total recovery coumarin on

methanol fraction of 81,18, % and % total recovery xanthone on  
heksane fraction of 81,91 % with multiple extraction at 6 stage.

***Keyword:*** *coumarin, LLE, nyamplung, solvent , xanthone*

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga kami dapat menyusun skripsi dengan judul:

**“PENGARUH JENIS SOLVEN TERHADAP  
PEMISAHAN XANTHONE DAN COUMARIN PADA  
CRUDE EKSTRAK DAUN NYAMPLUNG (*Calophyllum  
inophyllum*)”**

sebagai syarat kelulusan bagi mahasiswa tahap sarjana di Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya. Pada kesempatan ini, kami mengucapkan terima kasih atas segala bantuan dalam menyelesaikan skripsi ini kepada:

1. Bapak Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D, selaku Dosen Pembimbing I atas bimbingan, saran, dan motivasi untuk selalu berpikir positif karena tidak ada yang sia-sia atas apa yang sudah dilakukan.
2. Bapak Hakun Wirawasista Aparamarta, S.T., M.MT., Ph.D selaku dosen Pembimbing II atas bimbingan dan saran yang telah diberikan disela-sela pengerjaan thesis beliau.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng selaku Kepala Laboratorium Teknologi Biokimia, Departemen Teknik Kimia FTI-ITS atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
4. Kedua orang tua kami atas doa, bimbingan, perhatian, dan kasih sayang yang selalu tercurah selama ini.
5. Rekan-rekan seperjuangan, Chanifa, Dessy, Khozin, Imel, Ryan, Ambar yang sudah sama-sama berjuang dan saling membantu, Mas Affan, Mas Maktum, Mas David, dan Mas Toto yang juga sudah banyak memberikan saran serta motivasi.



Penyusun menyadari bahwa laporan skripsi ini masih perlu penyempurnaan. Oleh karena itu kami mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Semoga laporan skripsi ini kelak dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, 25 Januari 2017

Penyusun

# DAFTAR ISI

ABSTRAK .....	i
ABSTRACT .....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
I.1 Latar Belakang .....	I-1
I.2 Rumusan Masalah .....	I-4
I.3 Batasan Penelitian .....	I-4
I.4 Tujuan Penelitian .....	I-4
I.5 Manfaat Penelitian .....	I-5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
II.1 Tinjauan Umum Tanaman Nilam .....	II-1
II.1.1 Persebaran <i>Calophyllum inophyllum</i> (Nyamplung) di Indonesia .....	II-1
II.1.2 Karakteristik Tanaman Nyamplung <i>Calophyllum inophyllum</i> .....	II-3
II.1.3 Manfaat dan Kandungan dalam Daun Nyamplung ( <i>Calophyllum inophyllum</i> ) .....	II-5
II.1.4 Metode Mendapatkan Ekstrak Daun Nyamplung .....	II-11
II.1.5 Identifikasi dan Karakteristik .....	II-15
II.1.5.1 Metode Kromatografi .....	II-16
II.1.5.2 <i>Thin Layer Chromatography</i> (TLC) .....	II-16
II.2 Studi Hasil Penelitian Sebelumnya .....	II-19
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
III.1 Proses Pemisahan dan Pemurnian Xanthone dan Coumarin serta Variabel .....	III-1
III.2 Bahan dan Peralatan .....	III-1
III.2.1 Bahan .....	III-1
III.2.2 Peralatan .....	III-2

III.3 Metode Penelitian.....	III-2
III.3.1 Bahan Penelitian .....	III-2
III.3.2 Prosedur Penelitian .....	III-2
III.3.2.1 Ekstraksi Daun Nyamplung dengan Metode Perkolasi .....	III-2
III.3.2.2 Pemisahan dan Pemurnian Xanthone dan Coumarin dengan Metode Ekstraksi Liquid-liquid .....	III-3
III.3.2.3 Analisa Xanthone dan Coumarin dengan Menggunakan TLC .....	III-7
III.3.2.4 Analisa Xanthone dan Coumarin dengan Menggunakan GC .....	III-8
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
IV.1 Pemisahan dengan Ekstraksi Solid-Liquid .....	IV-1
IV.2 Pemurnian dengan Ekstraksi Liquid-Liquid .....	IV-3
IV.3 Standar Coumarin dan Xanthone .....	IV-6
IV.4 Hasil Analisa <i>Thin Layer Chromatodraphy</i> (TLC).....	IV-7
IV.5 Hasil Analisa <i>Gas Chromatography</i> (GC).....	IV-11
IV.6 Analisa Pengaruh Variabel Terhadap Hasil Penelitian .....	IV-26
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
V.1 Kesimpulan.....	V-1
V.2 Saran.....	V-1
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	xiii
<b>APPENDIKS</b>	
<b>RIWAYAT PENULIS</b>	

## DAFTAR TABEL

Tabel II.1	Karakteristik Tanaman Nyamplung .....	II-4
Tabel II.2	Manfaat dan Kegunaan Tanaman Nyamplung .....	II-5
Tabel II.3	Polaritas Solven .....	II-12
Tabel II.4	Kondisi Operasi Untuk Berbagai Macam Proses Ekstraksi .....	II-14
Tabel II.5	Adsorben dan Aplikasinya .....	II-16
Tabel IV.1.1	Perbandingan Metode Ekstraksi yang Digunakan .....	II-2
Tabel IV.2.1	Polaritas Solven .....	II-4
Tabel IV.5.1	Hasil Analisa GC Fraksi Polar (Methanol) Pada Crude Ekstrak 3000 mg .....	II-14
Tabel IV.5.2	Hasil Analisa GC Fraksi Non-polar (Heksane) Pada Crude Ekstrak 3000 mg .....	II-14
Tabel IV.5.3	Hasil % Recovery Xanthone dan Coumarin Fraksi Methanol, Heksane, dan Solid Pada Crude Ekstrak 3000 mg .....	II-16
Tabel IV.5.4	Hasil Analisa GC Fraksi Polar (Methanol) Pada Crude Ekstrak 12000 mg .....	II-20
Tabel IV.5.5	Hasil Analisa GC Fraksi Polar (Methanol) Pada Crude Ekstrak 12000 mg .....	II-20
Tabel IV.5.6	Hasil % Recovery Xanthone dan Coumarin Fraksi Methanol, Heksane, dan Solid Pada Crude Ekstrak 12000 mg .....	II-22
Tabel IV.5.7	Hasil Perhitungan % Wt dan % Recovery Xanthone dan Coumarin Pada Fraksi Methanol, Heksane, dan Solid untuk Ekstraksi Lanjutan .....	II-25
Tabel IV.5.8	Hasil % Total Recovery Xanthone dan Coumarin Pada Fraksi Methanol dan Heksane Untuk Ekstraksi Lanjutan .....	II-26

Tabel IV.6.1 Hasil Urutan Percobaan dengan Menggunakan Minitab 16.....	II-27
Tabel IV.6.2 ANOVA Pengaruh Variabel Terhadap % Recovery Coumarin dalam Fraksi Methanol.....	II-31
Tabel IV.6.3 ANOVA Pengaruh Variabel Terhadap % Recovery Xanthone dalam Fraksi Methanol.....	II-31
Tabel IV.6.4 ANOVA Pengaruh Variabel Terhadap % Recovery Coumarin dalam Fraksi Heksane.....	II-32
Tabel IV.6.5 ANOVA Pengaruh Variabel Terhadap % Recovery Xanthone dalam Fraksi Heksane.....	II-32

## DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Persebaran <i>Calophyllum inophyllum</i> di dunia .....	II-1
Gambar II.2	Persebaran <i>Calophyllum inophyllum</i> di Indonesia.....	II-2
Gambar II.3	Bagian-bagian Tanaman Nyamplung .....	II-3
Gambar II.4	Penggambaran Skema TLC dengan Campuran Dua Komponen .....	II-17
Gambar II.5	$R_f = Y/X$ .....	II-18
Gambar III.1	Skema Tahapan Ekstraksi Daun Nyamplung.....	III-3
Gambar III.2	Skema Pemisahan Fraksi Polar dan Non-polar Pada Crude Ekstrak Daun Nyamplung.....	III-5
Gambar III.3	Skema Multiple Extraction Pada Fraksi Solid.....	III-7
Gambar IV.2.1	Layer Dalam Beaker Glass.....	IV-5
Gambar IV.3.1	Struktur Senyawa Coumarin.....	IV-6
Gambar IV.3.2	Struktur Senyawa Xanthone .....	IV-6
Gambar IV.4.1	Spot Xanthone dan Coumarin Pada Panjang Gelombang 254 nm (a) dan 365 nm (b).....	IV-8
Gambar IV.4.2	Hasil TLC Crude Ekstrak Daun (a) dan Larutan Standar Xanthone dan Coumarin (b) .....	IV-9
Gambar IV.4.3	Hasil Analisa TLC Variabel 3000 mg Crude Ekstrak Pada Berbagai Konsentrasi Methanol.....	IV-10
Gambar IV.4.4	Hasil Analisa TLC Variabel 12000 mg Crude Ekstrak Pada Berbagai Konsentrasi Methanol.....	IV-10

Gambar IV.5.1	Kurva Kalibrasi Xanthone .....	IV-12
Gambar IV.5.2	Kurva Kalibrasi Coumarin.....	IV-13
Gambar IV.5.3	% Recovery Coumarin dalam Fraksi Methanol, Heksane, dan Solid Pada Crude Ekstrak 3000 mg .....	IV-17
Gambar IV.5.4	% Recovery Xanthone dalam Fraksi Methanol, Heksane, dan Solid Pada Crude Ekstrak 3000 mg .....	IV-17
Gambar IV.5.5	% Recovery Coumarin dalam Fraksi Methanol, Heksane, dan Solid Pada Crude Ekstrak 12000 mg .....	IV-22
Gambar IV.5.6	% Recovery Xanthone dalam Fraksi Methanol, Heksane, dan Solid Pada Crude Ekstrak 12000 mg .....	IV-23
Gambar IV.6.1	Uji Normalitas Respon % Recovery Coumarin (a) dan Xanthone (b) Terhadap Variabel Crude Ekstrak dan % Konsentrasi Methanol dalam Fraksi Methanol.....	IV-28
Gambar IV.6.2	Uji Normalitas Respon % Recovery Coumarin (a) dan Xanthone (b) Terhadap Variabel Crude Ekstrak dan % Konsentrasi Methanol dalam Fraksi Heksane .....	IV-30

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Tanaman *mangrove* atau yang lebih dikenal dengan sebutan tanaman bakau di Indonesia adalah tanaman yang memiliki banyak kegunaan dan sering dimanfaatkan oleh masyarakat, baik itu mulai dari akar sampai daun dari tumbuhan *mangrove* sendiri. Tanaman *mangrove* dapat ditemukan di daerah pesisir Indonesia, dimana 60% total *mangrove* yang tumbuh di Asia Tenggara tumbuh di wilayah Indonesia dengan sisanya tersebar di Malaysia (11,7%), Myanmar (8,8%), Papua Nugini (8,7%), dan Thailand (5,0%) (Giesen dkk, 2006).

Salah satu jenis tanaman *mangrove* yang memiliki nilai ekonomis tinggi adalah tanaman nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.), tanaman ini dikatakan memiliki nilai ekonomis tinggi karena hampir semua bagian tanamannya (batang, daun, bunga, biji, dan getah) dapat menghasilkan berbagai macam produk yang dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia.

Indonesia memiliki beraneka ragam flora hayati yang digunakan untuk pengobatan tradisional. Salah satu tumbuhan tersebut berasal dari genus *Calophyllum*. Tumbuhan yang termasuk genus ini antara lain : *Calophyllum amoenum* Wall, *Calophyllum inophyllum* Linn, *Calophyllum lanigerum* Miq, *Calophyllum venulosum* Zoll dan Mor. Tumbuhan *Calophyllum inophyllum* Linn tumbuh subur di berbagai daerah di Indonesia, antara lain : Sumatera, Jawa Tengah, Nusa Tenggara, Sulawesi, dan Bali. Sedangkan spesies yang lain hanya tumbuh di daerah tertentu di Indonesia. *Calophyllum inophyllum* Linn lebih banyak dimanfaatkan dibandingkan tumbuhan dari genus ini (Heyne, 1987).

Tanaman nyamplung mengandung banyak komponen kimia yang mengandung bahan bioaktif yang berkhasiat obat yaitu menghasilkan metabolit sekunder dari golongan *Non-nucleoside reverse transcriptase* dari HIV-1 (Pawar dkk, 2007).



Pemanfaatan obat tradisional berhubungan dengan senyawa kimia yang terkandung didalam tumbuhan tersebut. Penelitian tentang isolasi senyawa kimia dari daun *C. Inophyllum* pernah dilakukan oleh Patil (1993), Khan (1996), dan Ali (1999). Penelitian mereka menghasilkan senyawa yang berbeda. Patil berhasil mengisolasi senyawa coumarin, Khan mengisolasi senyawa benzodipiranon, dan Ali mengisolasi senyawa turunan benzodipiranon, triterpenoid, dan steroid.

Su dkk (2008) menyebutkan bahwa menurut Cechinel Filho dkk. (2009), pada berbagai bagian dari *Calophyllum inophyllum* mengandung komponen bioaktif, termasuk diantaranya adalah : xanthones, coumarins, chromanones, tripenes, tripenoids dan steroids. Sedangkan menurut Ling (2009), tanaman ini mengandung senyawa fitokimia yang dapat digunakan sebagai obat untuk berbagai penyakit. Senyawa tersebut diantaranya: *Inophynone*, *Canophyllol*, *Canophylic acid*, *Calophyllolide*, *Inophyllolide*, *Jacareubin*, *Calanolide A*, *Calophynone*, dan lain lain. Menurut Thengane dkk. (2006), disadur dari Yimdjio dkk (2004), nyamplung mengandung *agents chemopreventive cancer*, xanthone dan coumarins sebagai *antimicrobial activity*. Beberapa phyranocoumarin terisolasi dari genus *Calophyllum* yang menunjukkan aktivitas anti HIV-1 yang termasuk dalam NNRTI. Senyawa ini merupakan golongan turunan senyawa fenol. Senyawa yang menunjukkan aktivitas anti HIV-1 pada *Calophyllum inophyllum* Linn yaitu *Inophyllum B* dan *P* (Laure dkk, 2008). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Laure dkk (2008), senyawa coumarin menunjukkan anti HIV yang termasuk kedalam NNRTI. Coumarin merupakan salah satu metabolit sekunder pada tumbuhan. Senyawa coumarin dan turunannya banyak memiliki aktivitas biologis diantaranya sebagai anti koagulan darah, antibiotik, dan ada juga yang menunjukkan aktivitas menghambat efek karsinogenik (Murray, 1982). Coumarin ditemukan hampir disetiap bagian tumbuh-tumbuhan mulai dari akar, batang, daun sampai bunga dan juga buah (Robinson,1995).

Penelitian mengenai komponen bioaktif pada spesies *C. inophyllum* banyak dilakukan di luar negeri. Isolasi senyawa xanthone dari kulit akar *C. inophyllum* yang pernah dilakukan menggunakan sampel tumbuhan dari Jepang (Iinuma dkk., 1994, 1995), Kamerun (Yimdjo dkk., 2004) dan Malaysia (Ee dkk., 2009). Penelitian yang dilakukan Iinuma, dari bagian kulit akar *C. inophyllum* yang tumbuh di Jepang dilaporkan telah diisolasi senyawa dari golongan xanthone dan flavonoid menggunakan metode *reflux*. Penelitian yang dilakukan Yimdjo, dari bagian kulit akar spesies ini yang tumbuh di Kamerun juga berhasil diisolasi senyawa dari golongan xanthone dan triterpenoid dengan metode maserasi. Senyawa xanthone baru juga berhasil diisolasi dari kulit akar *C. inophyllum* yang tumbuh di Malaysia dengan metode destilasi. Beberapa senyawa aromatik seperti calosanton A, inosanton, maclurasanton dan calosanton B dilaporkan mempunyai bioaktivitas seperti sitotoksik dan anti mikroba (Noldin dkk., 2006).

Sampai saat ini, telah banyak penelitian yang dilakukan untuk mengetahui potensi lain yang dapat dihasilkan dari tanaman ini. Sayangnya, dari sekian banyak penelitian yang dilakukan, masih sedikit penelitian yang ditujukan untuk meneliti daun dan senyawa bioaktif yang terdapat didalamnya. Hasil penelitian yang didapatkan oleh Cachinel Filho dkk, Su dkk, dan Laure dkk untuk kandungan *bioactive compound* dalam daun nyamplung berbeda satu sama lain. Hal tersebut dapat disebabkan karena perbedaan wilayah tempat bahan baku yang digunakan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan *bioactive compound* yang ada dalam daun nyamplung yang tumbuh di Cilacap, Jawa Tengah dan mengambil serta memisahkan ekstrak xanthone dan coumarin yang dapat digunakan sebagai bahan obat-obatan.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Dari latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka dapat dirumuskan beberapa masalah yang akan dibahas dalam penelitian ini, yaitu :

1. Bagaimana cara memisahkan senyawa xanthone dan coumarin yang terkandung dalam fraksi polar daun nyamplung.
2. Bagaimana pengaruh jenis solven terhadap pemisahan senyawa xanthone dan coumarin yang terkandung dalam fraksi polar daun nyamplung.

## **I.3 Batasan Penelitian**

Agar penelitian ini tidak menyimpang dari ketentuan yang digariskan, maka diambil batasan dan asumsi sebagai berikut :

1. *Crude extract* daun nyamplung didapatkan dengan menggunakan metode perkolasi.
2. *Crude extract* daun nyamplung dipisahkan senyawa polar dan non polarnya menggunakan *Liquid-Liquid Extraction*.
3. Senyawa yang terkandung dalam daun nyamplung diidentifikasi secara kualitatif dengan menggunakan TLC (Thin Layer Chromatography serta secara kuantitatif menggunakan GC.
4. Senyawa yang akan dilakukan pemisahan merupakan senyawa bioaktif.

## **I.4 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk :

1. Mengetahui cara pemisahan senyawa xanthone dan coumarin yang terkandung dalam fraksi polar daun nyamplung.
2. Mengetahui pengaruh jenis solven terhadap pemisahan senyawa xanthone dan coumarin yang terkandung dalam fraksi polar daun nyamplung.

## **I.5 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari adanya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Dapat mengedukasi masyarakat mengenai manfaat-manfaat tanaman nyamplung, selain bijinya yang dapat digunakan sebagai minyak biodiesel.
2. Dapat mengetahui proses apa saja yang dapat dikembangkan dari daun nyamplung, terutama fungsi komponen bioaktifnya dalam dunia farmasi.
3. Dapat mengetahui metode yang dapat digunakan untuk pemisahan komponen bioaktif dari daun nyamplung yang dapat digunakan sebagai obat anti kanker dan obat HIV.
4. Dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai potensi daun nyamplung dalam bidang kesehatan.

**(Halaman ini sengaja dikosongkan)**

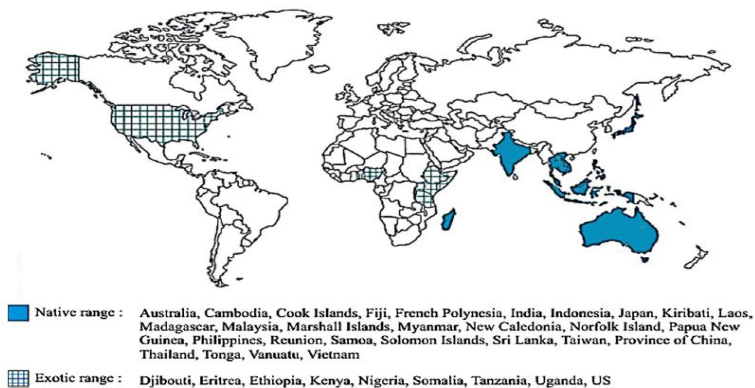
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Teori Penunjang

##### II.1.1 Persebaran *Calophyllum inophyllum* (Nyamplung) di Indonesia

Nama ilmiah dari *Calophyllum inophyllum* diambil dari bahasa Yunani *kalos*, yang berarti cantik dan *Phyllon* yang berarti daun. Di Inggris, pohonnya dikenal sebagai *beautiful leaf* (terjemahan dari bahasa Yunani), *Indian Laurel* (karena berasal dari India), *Alexandrian Laurel*, dan *Beach Calophyllum* (karena pohonnya biasanya tumbuh di tepi pantai). Di Tahiti, pohon ini dinamakan *ati* dan buahnya disebut *tamanu*. Sedangkan di Indonesia, tanaman ini disebut dengan *Nyamplung*. Sedangkan di Hawaii tanaman ini dinamakan *Kamani Tree* dan dikenal dengan sebutan *Foraha Tree* di Madagascar (Ling, 2009).



**Gambar II.1** Persebaran *Calophyllum inophyllum* di Dunia

Menurut Ong, dkk., 2014, pada **Gambar II.1** peta persebaran nyamplung atau *Calophyllum inophyllum* di dunia cukup luas. Spesies ini umumnya ditemukan di daerah yang

memiliki iklim tropis. Di dunia, spesies ini terdapat di negara-negara seperti Australia, Cambodia, Pulau Cook, Fiji, French Polynesia, India, Indonesia, Jepang, Kiribati, Laos, Madagaskar, Malaysia, Marshall Island, Myanmar, New Caledonia, Pulau Norfolk, Papua Nugini, Filipina, Reunion, Samoa, Pulau Solomon, Sri Lanka, Taiwan, Provinsi China, Thailand, Tonga, Vanuatu, dan Vietnam.

Di Indonesia sendiri, tanaman *Calophyllum inophyllum* atau yang biasa disebut tanaman nyamplung tersebar hampir merata di seluruh wilayah Indonesia. Dari **Gambar II.2** dibawah ini, dapat diketahui bahwa wilayah persebaran tanaman ini mencakup Sumatera (Sumatera Barat, Riau, Kepulauan Riau, Lampung, dan Kepulauan Bangka Belitung), Jawa (Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jogjakarta, Jawa Timur), Bali, NTT, NTB, Kalimantan (Kalimantan Barat, Kalimantan Tengah, dan Kalimantan Selatan), Sulawesi (Sulawesi Utara, Gorontalo, Sulawesi Tengah, Sulawesi Selatan dan Sulawesi Tenggara), Maluku, dan Papua (Sudraja, 2009).



**Gambar II.2** Persebaran *Calophyllum inophyllum* di Indonesia

### II.1.2 Karakteristik Tanaman Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*)

Tanaman *Calophyllum inophyllum* memiliki berbagai macam nama sebutan yang berbeda-beda di setiap wilayah. Di Indonesia kebanyakan menyebut tanaman ini dengan nama nyamplung. Di Inggris, warga setempat menyebutnya dengan Tamanu. Di Hawaii orang sekitar menyebutnya dengan Kamani, dan masih banyak lagi sebutan yang lain (Dweck dan Meadows, 2002). Tanaman *Calophyllum inophyllum* atau yang biasa disebut Nyamplung memiliki taksonom sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Superdiviso	: Spermatophyta (Menghasilkan Biji)
Diviso	: Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (dikotil)
Sub-Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Theales
Familia	: Clusiaceae
Genus	: <i>Calophyllum</i>
Spesies	: <i>Calophyllum inophyllum</i> Linn

(Heyne, 1987)



**Gambar II.3** Bagian – bagian Tanaman Nyamplung



Nyamplung adalah tanaman yang mudah tumbuh di daerah yang bertanah pasir dan daerah pesisir pantai berudara panas (Wahyuni, dkk., 2010). Tumbuhan ini tumbuh di daerah tropis, di sepanjang pantai dan mengelompok (Iskandari, Anna, 2010). Nyamplung juga dapat tumbuh baik pada ketinggian 0-800 mdpl seperti hutan, pegunungan, dan rawa-rawa (Baity, dkk., 2011). **Gambar II.3** merupakan bagian tanaman nyamplung yang memiliki karakteristik seperti yang dijelaskan pada **Tabel II.1** :

**Tabel II.1** Karakteristik Tanaman Nyamplung

<b>Nama Bagian Tanaman</b>	<b>Ciri-ciri</b>
Batang	Berkayu, bulat, dan berwarna coklat atau putih kotor.
Daun	Berwarna hijau, tunggal, bulat memanjang atau bulat telur, ujung tumpul, pangkal membulat, tepi rata, pertulangan bersirip, panjang 10-21 cm, tangkai 1,5-2,5 cm.
Akar	Tunggang, bulat, berwarna coklat.
Bunga	Majemuk, bentuk tandan, di ketiak daun yang teratas, berkelamin dua, diameter 2-3 cm, daun berkelopak empat, tidak beraturan, benang sari banyak, tangkai putih membengkok, kepala putik bentuk perisai, daun mahkota empat, bentuk perisai
Buah	Batu, bulat seperti peluru dengan mancung kecil di depannya, diameter 2,3-3,5 cm, berwarna coklat

### II.1.3 Manfaat dan kandungan dalam Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*)

*C.inophyllum* merupakan sumber obat-obatan tradisional. Air rendaman daun tumbuhan ini dapat menyejukkan mata dan mengobati mata yang meradang. Benang sari dari bunganya digunakan sebagai jamu bersalin. Bijinya dibuat selai dan digunakan untuk menyembuhkan kudis. Getah dan gelamnya digunakan untuk mengasapi penderita rematik, dan sendi-sendi kaku. Minyak dari biji tumbuhan ini dapat menghilangkan borok kepala dan menyembuhkan penyakit kulit bahkan dapat digunakan untuk menumbuhkan rambut (Heyne,1987).

Pada dunia farmasi, tanaman ini dikenal dapat berfungsi sebagai anti bakteri, anti kanker antineoplastic, anti inflamasi, antiplatelet, antipsikotik, antiviral, Photoprotective, Molluscicidal, dan Piscicidal (Ling, dkk., 2009). **Tabel II.2** merupakan manfaat dan kegunaan tanaman nyamplung yang diperoleh dari beberapa sumber :

**Tabel II.2** Manfaat dan Kegunaan Tanaman Nyamplung

Nama Bagian Tanaman	Fungsinya dalam dunia medis		
	Su, dkk., 2008	Iskandari, Anna, 2010	Ling, dkk. 2009
Daun	Mengobati ruam kulit, merawat luka bakar, dsb	Menghambat pertumbuhan larva <i>Culex Quinquefasciatus</i> dan <i>Aedes aegypti</i> , penghambat virus HIV	Mengobati penyakit kulit, radang sendi, linu panggul, iritasi pada mata

Buah/Biji	Mengobati nyeri lambung, luka bakar, dsb	Menghambat pertumbuhan larva <i>Culex Quinquefasciatus</i> , senyawa antimikroba dan agen toksik	Mengobati luka, kusta, penyakit syaraf, luka bakar.
Batang	Mengobati disentri, luka luar, bisul, dsb	Anti bakteri	Mengobati <i>internal haemorrhage</i>
Ranting		Anti Virus HIV dan anti tumor	

Karena seluruh bagian tanaman ini dapat bermanfaat dalam mengobati berbagai macam penyakit, maka sejumlah peneliti telah melakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan fitokimia dalam tanaman nyamplung ini. Menurut Ling, dkk., 2009 senyawa yang terkandung didalam tanaman ini diantaranya, Inophynone, Canophyllol, Canophylic acid, Calophyllolide, Inophyllolide A, Inocalophyllins A dan B, Calophynone, Calophyllumin C, Inophyllin A, dan lain-lain. Sementara dari Su, dkk., 2008 menyebutkan bahwa menurut Cechinel Filho, dkk., 2009, pada berbagai bagian dari pohon *Calophyllu inophyllum* mengandung komponen bioaktif, termasuk diantaranya adalah: xanthones, coumarins, chromanones (flavonoids, bioflavonoids), tripenes, tripenoids dan steroids.

Menurut Ling, dkk., 2009, penelitian lebih lanjut mengenai senyawa coumarin di dalam tanaman ini. Coumarin dalam *Calophyllum inophyllum* mengandung dua komponen yaitu *Calanolide A* dan *Calanolide B*. Dari penelitian tersebut didapatkan bahwa senyawa coumarin dalam *Calophyllum inophyllum* ini mungkin dapat efektif dalam mengobati penyakit kanker dan menghambat virus HIV.

Menurut Iskandari, A., 2010 dalam karya ilmiahnya, pada ranting terdapat senyawa turunan 4-fenil-coumarin yang merupakan senyawa anti virus HIV dan anti-tumor (Itoigawa et al, 2001). Ekstrak daun dan biji dari tumbuhan ini mampu menghambat pertumbuhan dari larva *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi* dan *Aedes aegypti* (Muthukrishnan, dkk., 2001). Selain itu ekstrak buah dan kulit akar dari tumbuhan merupakan senyawa antimikroba dan agen toksik. Senyawa-senyawa yang diisolasi dari akar, merupakan agen antibakteri (Yimdjo, dkk., 2004). Senyawa diisolasi dari daun *C. inophyllum* diketahui mempunyai aktivitas sebagai penghambat virus HIV (Patil, dkk., 1993).

Menurut Lim, T.K., 2012, dalam bukunya menurut Li, dkk., 2007, sedikitnya sembilan komponen telah di isolasi dari daun *Calophyllum inophyllum*, diantaranya: 2-hydroxyxanthone; 4-hydroxyxanthone; 1,5-dihydroxyxanthone; 1,7-dihydroxyxanthone; 1,3,5-trihydroxy-2methoxyxanthone; 6-6 deojacaerubin; flavonoids; amentoflavone; kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside; and quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside.

Dari ketiga penelitian mengenai daun, terdapat beberapa perbedaan sekaligus persamaan yang di dapat dari hasil analisa kandungan daun *Calophyllum inophyllum*. Beberapa senyawa yang sama yang telah di isolasi dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* cukup beragam, diantaranya senyawa turunan xanthone (Yimdjo, dkk., 2004; Linuma, dkk., 1994), coumarin (Su, dkk., 2008), flavonoid (Linuma, dkk., 1994), benzodipiranon (Khan, dkk., 1996), Triterpenoid (Yimdjo, dkk., 2004; Kumar, dkk., 1976) dan steroid (Su, dkk., 2008). Dibawah akan dijelaskan secara singkat mengenai komponen-komponen yang terkandung dalam *Calophyllum inophyllum*.

### 1) **Xanthone**

Xanthone merupakan senyawa dengan kerangka dasarnya dua fenil yang dihubungkan dengan jembatan karbonil dan oksigen (eter). Xanthone mempunyai kerangka dasar yang terdiri atas 13 atom karbon yang membentuk susunan C6-C1-C6.

Biosintesis senyawa xanthone belum diketahui secara jelas namun diduga masih berhubungan dekat dengan biosintesis senyawa flavonoid dan stilbenoid. Hal ini bisa dilihat dari tipe oksigenasi dua jenis cincin aromatik yaitu satu cincin aromatic (A) memperlihatkan ciri berasal dari jalur sikimat dan satu cincin (B) lagi memperlihatkan ciri berasal dari jalur asetat-malonat. Senyawa xanthone yang diisolasi dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* ada yang terprenilisasi dan ada juga yang tidak terprenilisasi. Kebanyakan senyawa xanthone yang diisolasi dari tumbuhan ini menunjukkan adanya ciri khas, salah satunya adalah gugus hidroksi pada C1.

Senyawa xanthone dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* antara lain: 1,5 dihidroksiksanton, caloksanton A, 3-hidroksiblcoksantona, caloksantona B (Yimdjo, dkk., 2004; linuma, dkk., 1994), caloksantona E, 1,2,8-trihidroksi-7-metaoksisantona, 1,3-dihidroksi-7,8-metaoksisantona, 6-hidroksi-1,5-dimetoksiksantona, 1,3,5-trihidroksi-2-metoksiksantona, caloksantona D (linuma, dkk., 1995), dan caloksantona C (Hay, dkk., 2004; linuma, dkk., 1994). Senyawa xanthone yang diisolasi dari kayu bagian dalam *Calophyllum inophyllum* antara lain 1,7-dihidroksiksantona, 1,5,6-trihidroksiksantona, 1,6-dihidroksi-5-metoksiksantona (Jebouri, dkk., 1971), 2-(3,3-dimetilalil)-1,3,5 trihidroksiksantona (Jebouri, dkk., 1971; Goh, dkk., 1991), dan 1,3,5,6-tetrahidroksi-2-(3-hidroksi-3-metilbutil) santon (Goh, dkk., 1991). Senyawa xanthone yang diisolasi dari kayu *Calophyllum inophyllum* antara lain: 1,7 dihidroksi-3,6-dimetoksiksantona, 6-(3',3'-dimetilalil) hidroksiksanton, jacareubin, dan dehidroksijacareubin (Kumar, dkk., 1976).

## 2) Coumarin

Senyawa bahan alam yang juga diisolasi dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* adalah golongan coumarin. Biosintesis senyawa coumarin berasal dari jalur sikimat, atau masih sejalur dengan golongan fenil propanoid. Dari segi biogenetic, kerangka benzopira-2-on dari coumarin berasal dari asam-asam sinamat

melalui orto-hidrolaksi. Asam orto-kumarat yang dihasilkan setelah menjalani isomerisasi cis-trans mengalami kondensasi (Lenny, 2006). Ciri khas senyawa ini adalah adanya gugus lakton yang terbentuk dari asam pada ujung gugus propan dengan hidroksi pada gugus fenil. Oksigenisasi senyawa coumarin pada cincin aromatiknya juga khas, yaitu berselang-seling. Struktur senyawa turunan coumarin dilihat dari gugus yang terikat pada C4 dapat dibedakan menjadi 4-metilcoumarin, 4-fenilcoumarin, dan 4-(n-propil) coumarin. Diantara ketiganya senyawa coumarin dengan gugus fenil dan n-propil pada C4 merupakan senyawa yang terbanyak ditemukan.

Senyawa coumarin yang telah diisolasi dari bagian daun *Calophyllum inophyllum* antara lain: inophyllum C , inophyllum E (Patil, dkk., 1993; Hawazu, dkk., 1968), inophyllum A , inophyllum B , inophyllum P , inophyllum D , asam calophyllic , asam isocalophyllic , inophyllum G-1 , dan inophyllum G-2 (Patil, dkk., 1993). Pada bagian biji *Calophyllum inophyllum* juga telah dilakukan isolasi golongan senyawa coumarin, antara lain: inophyllum C , inophyllum E , inophyllum B (Spino, dkk., 1998), inocalophyllin A , inocalophyllin A metil ester , inocalophyllin B , inocalophyllin B metil ester (Shen, dkk., 2003 dalam Su, dkk., 2008). Coumarin juga diisolasi dari *aerial part Calophyllum inophyllum*. Senyawa yang diisolasi dari bagian ini antara lain: calocoumarin A , calocoumarin B , calocoumarin C (Ito, dkk., 2003).

### **3) Benzodipiranon**

Benzodipiranon merupakan senyawa turunan dari kromanon. Senyawa-senyawa ini memiliki kerangka yang mirip dengan stilben dengan tambahan dua gugus prenil. Senyawa benzodipiranon dari tumbuhan *Calophyllum inophyllum* diisolasi dari bagian daun. Senyawa-senyawa tersebut adalah (2S,3R)-2,3-dihidro-5-hidroksi-2,3,8,8-tetrametil-6-(1-feniletetil)-4H, 8H-benzol[1,2-b:3,4-b']dipiran-4-on (Khan, et al., 1996), (2R,3R)-2,3-dihidro-5-hidroksi-2,3,8,8-tetrametil-6-(1-feniletetil)-4H, 8H-

benzol[1,2-b:3,4-b'] dipiran-4-on (Khan, dkk., 1996; Ali, dkk., 1999), dan isoinophynone (Ali, dkk., 1999).

#### **4) Triterpenoid**

Triterpenoid merupakan golongan senyawa terpenoid yang terdiri dari 30 atom C atau 6 unit isopren. Triterpenoid dalam jaringan tumbuhan dapat dijumpai dalam bentuk bebasnya, tetapi juga banyak dijumpai dalam bentuk glikosidanya. Triterpenoid terbagi dalam struktru siklik dan asiklik. Triterpenoid asiklik yang penting hanya squalene yang dianggap sebagai senyawa antara dalam biosintesis steroid. Triterpenoid yang paling tersebar luas adalah triterpenoid pentasiklik. Kerangka yang paling banyak dijumpai pada senyawa golongan triterpenoid adalah ursam, lupan, oleanan, dan friedelin (Kristanti dkk., 2008).

Senyawa triterpenoid yang diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum* antara lain : canophyllol , friedelin , asam canophyllic (Ali, dkk., 1999; Govindanchari, dkk., 1967), 27-hidrosiasetat asam canophyllic., dan asam 3,4-secofriedelane-3,28-dioic )Laure, dkk., 2005 dalam Su, dkk., 2005). Friedelin juga diisolasi dari kulit akar *Calophyllum inophyllum* (Yimdjo, dkk., 2004). Hasil isolasi dari bagian kayu mendapatkan senyawa  $\beta$ -amyirin (Kumar et al., 1976).

#### **5) Steroid**

Steroid ditemukan pada *Calophyllum inophyllum* adalah sitisterol (Kumar, dkk., 1976; Goh, dkk., 1991) dan Kolesterol (Ali, dkk., 1962). Sterol adalah steroid yang memiliki gugus hidroksi pada C3nya. Sterol dijumpa dalam bentuk bebas ataupun bergabung dengan glukosa membentuk glikosida (sterolin) atau sebagai ester asam lemak. Sterol merupakan senyawa bahan alam yang umumnya tersusun dari 27 atom karbon (Kristianti, dkk., 2008).

#### **6) Flavonoid**

Flavonoid mempunyai kernagka dasar yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana rantai benzene (C6) terikat pada suatu rantai propane (C3) sehingga membentuk susnan C6-C3-C6. Golongan

terbesar dari flavonoid adalah flavon. Senyawa flavon memiliki kerangka 2-fenil kroman dimana posisi orto dari cincin A dan atom karbon yang terikat pada cincin B dari 1,3 dialilpropana dihubungkan oleh jembatan oksigen sehingga membentuk cincin heterosiklik yang baru (Lenny, 2006).

#### **II.1.4 Metode Mendapatkan Ekstrak Daun Nyamplung**

Senyawa polar adalah suatu senyawa yang terbentuk akibat suatu atom mempunyai keelektronegatifan yang substansial lebih besar daripada yang lain. Semakin elektronegatif suatu atom, semakin besar tarikannya terhadap ikatan elektron. Hasilnya adalah suatu ikatan dengan distribusi rapat elektron yang tak merata. Senyawa non polar adalah suatu senyawa yang terbentuk akibat atom dengan keelektronegatifan yang sama atau hampir sama membentuk ikatan kovalen, dimana kedua atom menerapkan tarikan yang sama atau hampir sama terhadap elektron ikatan. Umumnya, ikatan karbon-karbon dan ikatan karbon-hidrogen adalah jenis ikatan nonpolar yang paling umum (Fessenden, R.J., 1986)


Untuk mengidentifikasi kandungan senyawa polar dan non polar dari daun nyamplung, hal yang perlu dilakukan pertama kali adalah memisahkan antara kandungan polar dan non polarnya. Pemisahan ini berdasarkan *solvent* yang digunakan. Pelarut yang cocok untuk mengekstraksi senyawa yang akan diisolasi harus dipilih dengan hati-hati karena senyawa yang diekstrak akan didasarkan pada jenis pelarut yang digunakan (Zarnowski dan Suzuki, 2004). Pelarut polar akan mengisolasi senyawa polar dan pelarut non - polar akan mengisolasi senyawa non - polar sehingga pelarut yang berbeda akan menghasilkan ekstrak yang berbeda dan komposisi ekstrak. Hasil tertinggi umumnya dicapai dengan menggunakan metanol atau etanol dan campuran mereka dengan air (Franco, dkk., 2008).

Pemilihan *solvent* tersebut berdasarkan *polarity index*. Air merupakan *solvent* polar dengan *polarity index* sebesar 9. Sedangkan methanol merupakan senyawa agak polar dengan



*polarity index* sebesar 5,1. Untuk n-heksana/*petroleum eter* merupakan senyawa non polar dengan *polarity index* sebesar 0 (Sadek,2002). Dengan dua sifat polaritas yang berbeda diharapkan senyawa polar yang terkandung dalam daun nyamplung akan terlarut pada *solvent* polar begitu sebaliknya. Polar atau non polar suatu senyawa dapat dilihat pada **Table II.3** dibawah ini :

**Tabel II.3** Polaritas *Solvent* (Sadek,2002)

Relative Polarity	Formula	Group	Solvents
Non-polar 	R-H	Alkanes	Petroleum ethers, hexanes, ligroin
	Ar-H	Aromatics	Toluene
	R-O-R	Ethers	Diethyl ether
	R-X	Alkyl halides	Trichloromethane, chloroform
	R-COOR	Esters	Ethyl acetate
	R-CO-R	Aldehydes, Ketones	Acetone, MEK
	R-NH <sub>2</sub>	Amines	Phyridine, triethylamine
	R-OH	Alcohols	MeOH, EtOH, IPA, Butanol
	R-COHN <sub>2</sub>	Amides	Dimethylformamide
	R-COOH	Carboxylic Acid	Ethanoic acid
Polar	H-O-H	Water	

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu atau beberapa zat dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pelarut tidak atau hanya sebagian larut dengan padatan atau cairan dengan kontak secara terus menerus agen aktif berpindah dari campuran padatan.cairan (*raffinate*) menuju pelarut (*Extract*). Setelah pencampuran dua fase, proses pemisahan dilakukan dengan prinsip gravitasi atau dengan gaya sentrifugal

(gamse,T.,2004). Kondisi operasi pada berbagai macam proses ekstraksi dapat dilihat pada **Tabel II.4**.

Yunitasari, E.P., (2008) dalam penelitiannya menjelaskan tentang pengaruh jenis solvent pada berbagai variasi jumlah tray dari 6-10 untuk pengambilan minyak nyamplung dengan metode ekstraksi kolom. Dari hasil percobaan, penulis menjelaskan bahwa semakin banyak jumlah tray maka semakin cepat waktu yang dibutuhkan solvent untuk mengekstrak minyak. Pelarut yang digunakan adalah antara n-Hexane dan n-Petroleum. Dari hasil percobaan penulis menjelaskan bahwa kondisi maksimum ekstraksi dicapai n-Petroleum pada tray ketujuh, kemudian pada tray selanjutnya semakin menurun jumlah minyak yang diperoleh. Sedangkan untuk n-Hexane, minyak yang diperoleh terus meingkat di setiap kenaikan tray.

**Tabel II.4** Kondisi Operasi untuk Berbagai Macam  
Proses Ekstraksi

	<b>Modified Sokhlet Extraction</b>	<b>Ekstra ksi Soxhlet</b>	<b>Masera si</b>	<b>Pressuriz ed Liquid Extractio n</b>
<b>Pelarut Umum yang digunaka n</b>	Heksana, Ethyl acetate	Methan ol, ethanol , atau campur an etanol- air	Methano l, ethanol, atau campura n etanol- air	CO <sub>2</sub> ,Alko hol, Dichloro methane- acetone
<b>Temperat ur (°C)</b>	Dipanaskan	Tergant ung pelarut yang diguna kan	Dapat dipanask an	Dipanask an
<b>Pengguna an Tekanan diatas 1 atm</b>	Tidak bisa	Tidak bias	Tidak bisa	Bisa (50- 250 bar)
<b>Waktu yang dibutuhk an</b>	11-12 jam	3-18 jam	3-4 hari	5 menit

<b>Volume Pelarut (ml)</b>	350	150-200	Tergantung banyak nya sampel	Dapat mengurangi penggunaan pelarut 30 ml/sampel dibandingkan dengan ekstraksi soxhlet
<b>Referensi</b>	Fabian et al.,2009; Gunawan et al.,2008;Kasim et al.,2009;Gunawan et al.,2013	Yunitas ari, E.P.,2008	Sasidharan et al., 2011	Saleh N.M. et al., 2009

### II.1.5 Identifikasi dan Karakterisasi

Pemisahan untuk identifikasi dan karakterisasi pada umumnya dibagi menjadi dua macam yaitu metode kromatografi dan metode non-kromatografi. Kromatografi sendiri merupakan suatu metode pemisahan komponen-komponen dari sampel dimana terdistribusi dalam dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa solid atau liquid, biasanya dalam bentuk solid atau gel. Sedangkan fase gerak dapat berupa packed dalam kolom, tersebar sebagai layer, atau terdistribusi dalam film, dan sebagainya. Fase gerak dapat berupa gas, liquid atau fluida superkritis. Proses pemisahannya dapat berupa adsorpsi, distribusi massa, pertukaran ion, dan lain-lain, atau berdasarkan perbedaan sifat physico-chemical dari molekulnya seperti ukuran, massa,

volume, dan lain-lain. (European Pharmacopeia,2005). Contoh dalam metode kromatografi adalah dengan TLC, GC-MS, dan HPLC. Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah TLC dan GC-MS. Sedangkan metode non-kromatografi mencakup immunoassay yang menggunakan antibody monoclonal (Mabs),*phytochemical screening assay*, *Fourier-transform infrared spectroscopy* (FTIR), dan *Spectrophotometry* UV-Vis.

### II.1.5.1 Metode Kromatografi

#### II.1.5.1.1 *Thin Layer Chromatography* (TLC)

TLC atau (Thin Layer Chromatography) merupakan suatu metode untuk menganalisa campuran dengan memisahkan senyawa-senyawa dalam campuran. TLC dapat digunakan untuk membantu menentukan jumlah komponen dalam suatu campuran, mengidentifikasi senyawa dan kemurnian suatu senyawa. TLC memiliki fase gerak dan fase diam. Fase geraknya berupa liquid, sedangkan untuk fase diamnya biasanya berupa silica atau alumina. Silica dan alumina ini merupakan adsorbent inert yang lapisannya sangat polar. Adsorben dan aplikasinya dapat dilihat pada **Tabel II.5** dibawah ini :

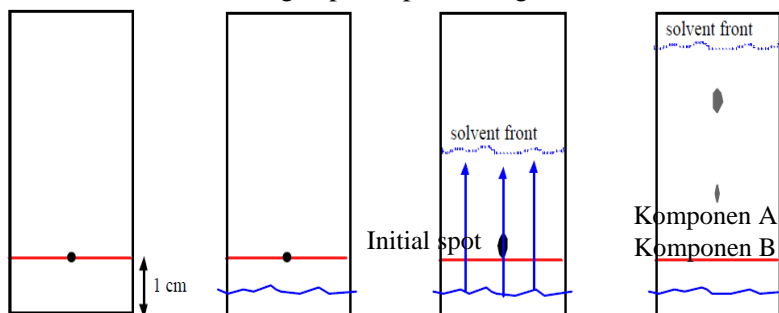
**Tabel II.5** Adsorben dan Aplikasinya

<b>Adsorben</b>	<b>Kekuatan</b>	<b>Aplikasi</b>
Silika Gel	Kuat	Steroids, asam amino, lipid
Charcoal	Kuat	Peptida, Karbohidrat
Aluminium Oksida	Kuat	Steroids, ester, m alkaloid
Magnesium Karbonat	Medium	Porphyrins
Kalsium Phosphat	Medium	Protein, polynucleotides
Selulosa	Lemah	Protein

(www.phys.sinica.edu.)

TLC terdiri atas tiga langkah yaitu *spotting*,*development*, dan *visualization*. Pada *spotting*, sampel

akan ditotolkan pada plate TLC dalam jumlah yang kecil dengan menggunakan micropipette. Pada *development*, senyawa-senyawa dalam sampel akan terelusi dengan kecepatan yang tergantung pada sifat senyawa-senyawa tersebut (kemampuan terikan pada fasa diam dan kemampuan terikan pada fasa gerak). Senyawa non-polar akan lebih sedikit tertarik pada plate sehingga akan menghabiskan waktu yang lebih banyak pada fase gerak. Senyawa ini akan bergerak lebih cepat dan muncul lebih dekat dengan puncak dari plate. Sedangkan senyawa polar akan lebih tertarik pada plate sehingga akan menghabiskan waktu lebih sedikit pada fase gerak dan akan muncul lebih rendah pada plate. Pada visualisasi, spot-spot dapat secara langsung diamat setelah proses *development*. Namun karena pada umumnya suatu senyawa tidak berwarna, metode visualisasi dibutuhkan. Misalnya pada silica gel dalam plate TLC yang akan menampilkan dark spot dibawah sinar ultraviolet atau dengan menempatkan plate pada iodine vapor dalam beberapa menit. Senyawa-senyawa organik pada umumnya akan membentuk warna gelap kompleks dengan iodine.

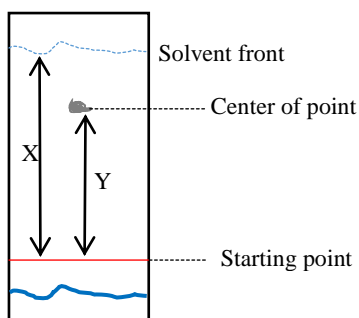


**Gambar II.4** Penggambaran Skema TLC dengan Campuran Dua Komponen

Pada Gambar II.4 diatas dapat dilihat bahwa semakin berjalannya waktu, komponen A dan komponen B akan terpisah. Solvent terus bergerak menuju atas dengan prinsip kapilaritas. Komponen B merupakan senyawa yang kurang polar dibandingkan dengan komponen A karena lebih dekat dengan

puncak plate. Sedangkan komponen A merupakan senyawa yang lebih polar.

Analisis suatu senyawa dalam TLC biasanya dilakukan dengan dibandingkan terhadap senyawa standarnya. Seperti yang ditunjukkan pada **Gambar II.5**, nilai  $R_f$  (*-Retardation factor*) digunakan untuk mengkuantitaskan perpindahan dari suatu material sepanjang plate.  $R_f$  sebanding dengan jarak yang berpindah dari suatu solvent. Biasanya nilainya diantara nol dan satu. Umumnya efektif solvent memiliki nilai  $R_f$  antara 0.3-0.7. Secara ideal, nilai  $R_f$  akan sama dari senyawa yang diberikan dengan menggunakan pelarut yang sama. Secara praktis, perpindahan berdasarkan dari struktur dan ketebalan dari layer, jumlah air tersisa, dan efek dari binding agents.



**Gambar II.5**  $R_f = Y/X$  (selalu  $\leq 1$ )

*Thin Layer Chromatography* (TLC) ini adalah analisa kualitatif. Keuntungan dengan menggunakan metode TLC ini adalah mudah, cepat, dan murah. Namun terkadang juga ada masalah dengan metode ini, misalnya adalah sampel tidak muncul yang kemungkinan dapat disebabkan karena sampel tidak cukup atau dibutuhkan metode visualisasi yang berbeda.

Dari penelitian Anna Iskandar, 2010, TLC digunakan untuk menentukan tiap langkah yang dilakukan pada proses kromatografi untuk isolasi senyawa bahan seperti pemilihan system eluen dan monitoring jumlah komponen yang ada dalam

suatu fraksi. TLC juga digunakan untuk memonitoring kemurnian dari suatu senyawa. Senyawa tunggal tersebut dimonitoring dengan uji TLC menggunakan variasi eluen, jika spot dari beberapa elusi tetap satu, maka senyawa diduga murni. Pada penelitian ini digunakan plat silica yang spesifik untuk senyawa aromatic yaitu plat silica GF<sub>254</sub>. Reagen penyemprot yang digunakan adalah reagen umum untuk mendeteksi adanya senyawa aromatic, yaitu Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. Senyawa yang diduga murni ini dielusidasi dengan spektrofotometri IR, UV, H NMR, C NMR, C NMR DEPT 90 dan NMR dua dimensi.

Praveena, dkk (2013) menggunakan analisa TLC untuk mengetahui senyawa yang ada pada ekstrak methanol daun *Calophyllum inophyllum* pada pelarut yang berbeda baik pada fase normal dan balik. TLC ini dilakukan dengan prosedur standar untuk mendeteksi *phytochemical*, memonitoring progress dari kromatografi kolom, dan mengetes homogenitas dari bahan yang terisolasi. Plat yang digunakan untuk fase normal dan balik adalah plat silica gel 60 F254 (Mercks, Germany) yang digunakan untuk fase diam. Pendeteksian *phytochemical* pada plat TLC setelah observasi terlebih dahulu pada siang hari, kemudian dibawah sinar UV, dan dispray dengan reagen vanillin-sulphuric acid (VS). VS reagen tersebut mengandung 5% larutan methanol dari asam sulfat (larutan 1) dan 1% larutan methanol dari vanillin (larutan 2). Pertama, plat disemprot dengan larutan 1 untuk membasahinya, diikuti dengan larutan 2, dan kemudian dipanaskan 3-4 menit pada suhu 110°C dibawah pengawasan. Steroid/triterpenoid dan glycoside akan memberikan spot berwarna biru, biru-violet, pink dan warna kuning dari flavonoid.

## II.2 Studi Hasil Penelitian Sebelumnya

Penelitian-penelitian tentang daun nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) yang telah dilakukan antara lain :

### 1. **Pai, dkk., (1966)**

Melakukan penelitian mengenai kandungan Triterpenes yang ada pada *Calophyllum inophyllum* linn. Objek penelitian yang



digunakan dalam penelitiannya adalah daun nyamplung. Hasil ekstraksi daun nyamplung dengan n-Heksane menghasilkan campuran solida yang mengandung triterpenes yang kemudian diuji menggunakan *Chromatography* untuk membuktikannya. Hasil *Chromatography* menunjukkan bahwa sampel mengandung 4 jenis komponen kristal A, B, C, dan D yang dibedakan menurut tingkat kepolarannya. Dimana kristal A tersusun atas 3 triterpenes yaitu *canophyllal*, *canophyllol*, dan *canophyllic acid*. Kristal B dianalisa sebagai senyawa dengan rumus molekul  $C_{30}H_{48}O_3$ . Sementara kristal C dianalisa sebagai komponen dengan rumus molekul  $C_{30}H_{50}O_2$ . Dan komponen D, dianalisa sebagai komponen dengan rumus molekul  $C_{30}H_{50}O_3$ .

2. **Frederic, dkk., (2008)**

Penelitian dengan judul *Screening of Anti-HIV-1 Inophyllums by HPLC-DAD of Calophyllum inophyllums Leaf Extracts from French Polynesia Islands* bertujuan untuk menganalisa senyawa bioaktif dari ekstrak daun nyamplung kemudian dianalisa dengan HPLC. Sebanyak 600 mg crude ekstrak didapat dari ekstraksi 10 gr daun nyamplung dengan menggunakan solvent ethyl asetat 100 ml. Dari analisa HPLC, didapatkan hasil bahwa terdapat komponen bioaktif coumarin pada beberapa daun nyamplung di pulau French Polynesia berupa inophyllum B (0-39 mg/kg) dan inophyllum P (0-21,8 mg/kg).

3. **Iskandari (2010)**

Melakukan penelitian tentang Isolasi dan Elusidasi Struktur Quercetrin dari Daun Nyamplung. Sebanyak 5 kg serbuk kering daun nyamplung dimaserasi dalam 17 L methanol selama 24 jam. Filtrat yang didapat kemudian dipekatkan lagi. Ekstrak yang sudah pekat kemudian dilarutkan kembali dalam n-Heksane dengan cara ekstraksi liquid-liquid. Ekstrak yang mengandung methanol (lapisan bawah) diambil kemudian dihilangkan methanolnya sehingga didapatkan ekstrak kering yang selanjutnya diuji menggunakan Kromatografi Laju Tipis.

Setelah diuji dan membandingkan dengan data pada referensi, maka senyawa yang diperoleh dari proses isolasi tersebut adalah senyawa quercetrin (quercetrin-3-O-rhamnosida) yang termasuk kedalam golongan flavonoid glikosida.

**4. Janki, dkk., (2012)**

Melakukan penelitian tentang *Antislipidemic* dan aktifitas antioksidan dari senyawa yang diisolasi dari daun *Calophyllum inophyllum*. Daun dari *Calophyllum inophyllum* ditumbuk hingga berbentuk serbuk. Serbuk daun diekstrak dengan 95% ethanol dan dibiarkan pada suhu kamar selama 24 jam. Hasil ekstraksi lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak ethanol ini kemudian di fraksionasi dengan toluene dan air. Bagian yang larut dalam toluene dipisahkan menggunakan corong pemisah dan dipekatkan sedangkan bagian *aqueous* dilarutkan kembali dengan ethyl asetat. Bagian yang larut di ethyl asetat dipisahkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Bagian yang *aqueous* kemudian di fraksionasi dengan n-butanol. Tiap bagian yang larut di masing-masing pelarut dilakukan analisa kromatografi menggunakan *silica gel* sehingga akan didapatkan senyawa bioaktif yang bisa diisolasi. Komponen yang diisolasi adalah *calophylllic acid* dan *isocalophylllic acid*, *canophylllic acid*, *amentoflavone*, dan *shikimic acid*,

**5. Praveena, dkk., (2013)**

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa komponen fitokimia dalam daun *Calophyllum inopyhllum*. Serbuk daun *Calophyllum inopyhllum* dimaserasi menggunakan methanol selama 7 hari dalam labu alas datar. Ekstrak yang dihasilkan kemudian disaring lalu dikentalkan dan dimasukkan dalam desikator. Ekstrak yang terbentuk kemudian diuji menggunakan TLC (*Thin Layer Chromatography*). Hasil analisa secara kualitatif menyebutkan bahwa ekstrak daun tersebut mengandung flavonoidal, glycosides, dan steroidal glycosides.

**6. Syukriah (2014)**

Dalam penelitiannya yang berjudul *Effect of solvent extraction on antioxidant and antibacterial activities from Quercus infectoria (Manjakani)* bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengukur asam galat dan asam tannic dari ekstrak Manjakani menggunakan enam jenis pelarut yaitu methanol (100%;70%), ethanol (100%;70%), acetone (100%), dan air (100%). Serbuk Manjakani dilakukan ekstraksi dengan enam jenis pelarut tersebut kemudian dilakukan analisa dengan menggunakan HPLC. Hasil kuantitatif dari penelitian ini adalah teridentifikasi asam galat paling tinggi kadarnya terdapat pada pada solvent 100% air sebesar 101,55 mg/g dan asam tannic pada solvennt 100% air sebesar 2975 mg/g.

**7. Dailey (2015)**

Dalam penelitian yang berjudul *Effect of Extraction Solvents on Recovery of Bioactive Compounds and Antioxidant Properties from Macadamia (Macadamia tetraphylla) Skin Waste* bertujuan untuk menentukan karakteristik dari kacang Macadamia dan untuk menguji dampak dari pelarut yang berbeda pada pemulihan senyawa fenolik (TPC), flavonoid, proanthocyanidins dan sifat antioksidan dari kulit Macadamia. Hasil kualitatif dari penelitian ini adalah bahwa jenis pelarut ditemukan secara signifikan mempengaruhi hasil pemulihan komponen bioaktif dari kulit macadamia. Kombinasi pelarut organik, metanol, etanol, asetonitril dan aseton dengan air (50%, v / v) memiliki hasil pemulihan tertinggi untuk TPC, flavonoid dan proanthocyanidins serta menunjukkan sifat antioksidan paling kuat, diikuti oleh metanol absolut, kemudian air. Etanol, asetonitril dan aseton memiliki hasil pemulihan terendah. Sehingga dari studi ini direkomendasikan bahwa 50% aseton harus digunakan untuk pemulihan TPC dan flavonoid dan 50% etanol harus digunakan untuk ekstraksi proanthocyanidins dari kulit macadamia.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **III.1 Proses Pemisahan dan Pemurnian Xanthone dan Coumarin serta Variabel**

1. Ekstraksi daun nyamplung dengan proses perkolasi
  - a. Solid berupa daun nyamplung sebanyak 500 gr.
  - b. Pelarut yang digunakan adalah methanol teknis sebanyak 1,5 L.
  - c. Perendaman dilakukan selama 3 hari.
2. Pemisahan dan pemurnian xanthone dan coumarin dengan ekstraksi liquid-liquid
  - a. Variabel crude ekstrak : 3000 dan 12000 mg
  - b. Pelarut polar : Methanol - air dengan variabel konsentrasi methanol 20; 50; 80; dan 99,98%.
  - c. Pelarut non polar : Heksane
  - d. Rasio pelarut (Polar – Non polar) yang digunakan 150 : 150 (gr/gr)
3. Identifikasi produk
  - a. Ekstrak daun diuji menggunakan TLC untuk analisa kualitatif.
  - b. GC untuk analisa kuantitatif

#### **III.2 Bahan dan Peralatan**

##### **III.2.1 Bahan**

1. Daun nyamplung
2. n-Heksane teknis
3. Methanol (98%) teknis
4. Methanol PA
5. Asam asetat
6. Etil asetat
7. Aquades

### **III.2.2 Peralatan**

- |                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| 1. Labu distilasi  | 7. Stirer magnetik |
| 2. Kondensor       | 8. Kertas saring   |
| 3. Thermometer     | 9. Kertas TLC      |
| 4. Neraca analitik | 10. Beaker glass   |
| 5. Corong pemisah  | 11. Cawan          |
| 6. Corong kaca     | 12. Pipet tetes    |

### **III.3 Metode Penelitian**

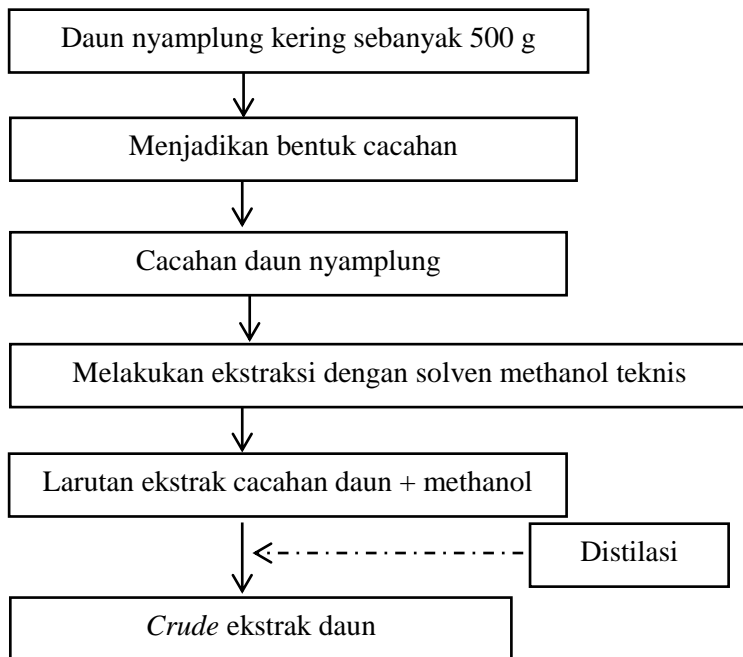
#### **III.3.1 Bahan penelitian**

Daun nyamplung diperoleh dari Koperasi Jarak Lestari, yang berada di Cilacap, Jawa Tengah. Bahan-bahan kimia seperti n-heksane, methanol, asam asetat, dan etil asetat dibeli dari PT. Bratachem; Thin-layer chromatography (TLC) alumunium plate (20 x 20 cm x 250 µm) dan aquades diperoleh dari Laboratorium Teknologi Biokimia ITS. Komponen standar yang digunakan meliputi coumarin dari Sigma Aldrich (C4261) dan xanthone dari Sigma Aldrich (X600).

#### **III.3.2 Prosedur Penelitian**

##### **III.3.2.1 Ekstraksi daun nyamplung dengan Metode Perkolasi**

Metode yang digunakan adalah metode perkolasi. Metode ini dilakukan untuk mendapatkan *crude* ekstrak daun nyamplung. Cacahan daun nyamplung yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dengan cara daun nyamplung segar dikeringkan kemudian diblender hingga menjadi bentuk cacahan. Sebanyak 500 gr cacahan daun nyamplung kering direndam dengan 1,5 L methanol teknis selama 3 hari,, dan diulangi sebanyak 2 kali. Hasil perendaman kemudian diuapkan dengan distilasi untuk menghilangkan kandungan methanolnya sehingga diperoleh *crude* ekstrak daun nyamplung. Skema percobaan untuk mendapatkan *crude* ekstrak daun nyamplung dapat dilihat pada **Gambar III.1** dibawah ini :



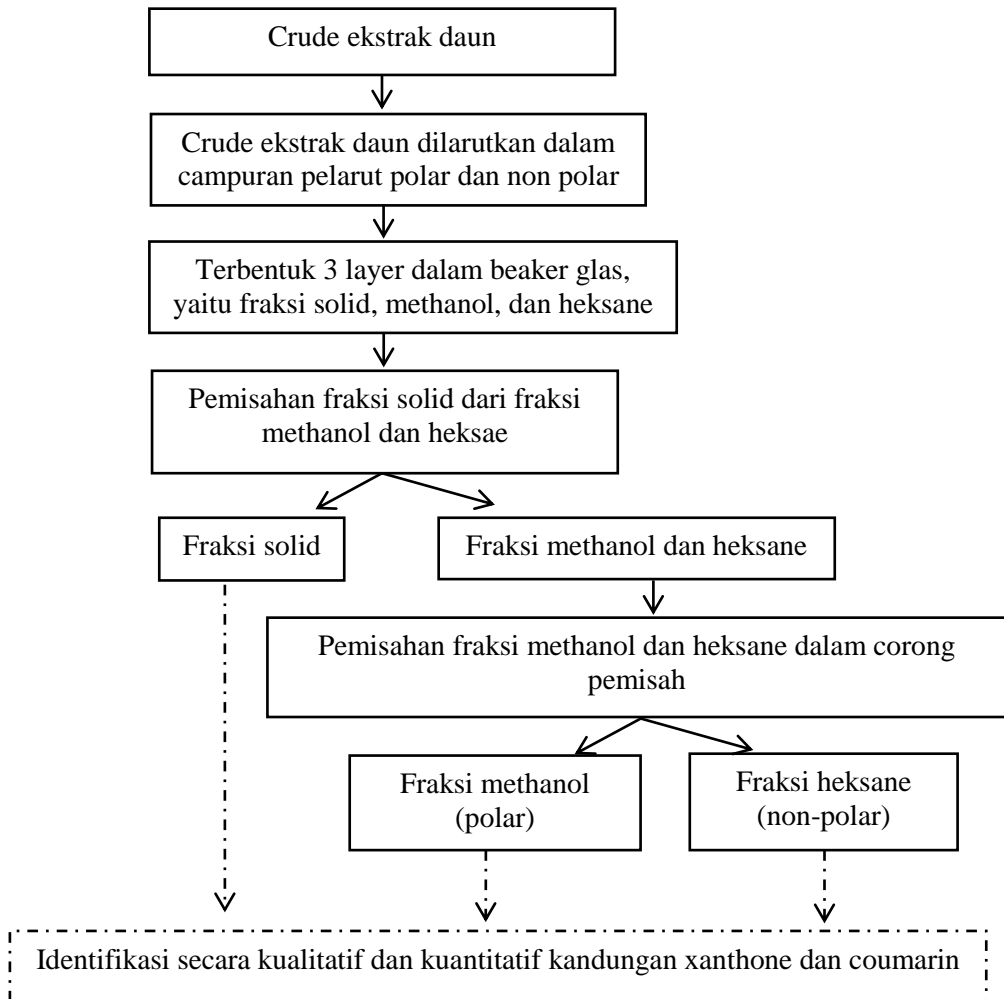
**Gambar III.1** Skema Tahapan Ekstraksi Daun Nyamplung

### **III.3.2.2 Pemisahan dan Pemurnian Xanthone dan Coumarin dengan Metode Ekstraksi Liquid-liquid**

Metode ini dilakukan untuk menghilangkan pengotor sekaligus memurnikan dan memisahkan antara fraksi polar dan non-polar yang masih ada dalam *crude* ekstrak. *Crude* ekstrak yang diperoleh dari prosedur sebelumnya dicampurkan dengan pelarut polar yaitu methanol kombinasi dengan air (methanol konsentrasi) dan pelarut non-polar yaitu heksane, dimana terdapat 2 variabel *crude* ekstrak yang digunakan, yaitu 3000 mg dan 12000 mg. Sedangkan perbandingan rasio pelarut polar dan non-polar yaitu 150:150 (gr/gr). Untuk pelarut polar yaitu methanol kombinasi dengan air, digunakan variabel konsentrasi methanol 20; 50; 80; dan 99,98%. Misalnya pada variabel *crude*

ekstrak 3000 mg dicampurkan kedalam pelarut methanol dan heksane dengan perbandingan variabel pelarut 150:150 (gr/gr), dengan konsentrasi methanol 20% (20% methanol 80% air).

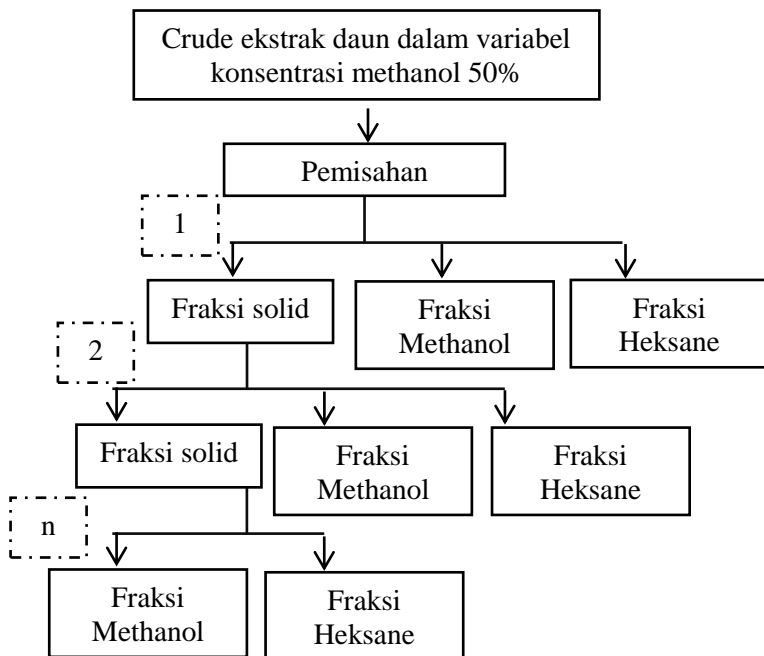
Proses ekstraksi ini dimulai dengan penimbangan *crude* ekstrak sesuai dengan variabel yaitu 3000 dan 12000 mg. *Crude* ekstrak yang telah ditimbang selanjutnya dimasukkan kedalam *beaker glass* kemudian ditambahkan methanol sesuai variabel yaitu methanol konsentrasi 20;50;80; dan 99,98% sebanyak 150 gr. Campuran *crude* dan methanol ini diaduk menggunakan *stirrer* magnetik selama 30 menit agar methanol mengikat seluruh komponen polar yang ada didalam *crude*. Setelah 30 menit, ditambahkan heksane sebanyak 150 gr kedalam campuran *crude* dan methanol kemudian diaduk kembali menggunakan *stirrer* magnetik selama 30 menit agar komponen yang agak polar sampai non-polar akan terikat didalam heksane. Dalam *beaker glass* akan terbentuk 3 layer, layer bawah adalah *crude* yang tidak larut yang selanjutnya akan disebut sebagai fraksi solid, layer tengah adalah fraksi methanol dan layer atas adalah fraksi heksane. Fraksi solid yang tidak larut dipisahkan dari fraksi methanol dan heksane, kemudian fraksi methanol dan heksane dipindahkan kedalam corong pemisah untuk kemudian dilakukan pemisahan. Didalam corong pemisah, layer atas merupakan heksane (non-polar) dan layer bawah merupakan methanol (polar). Hasil pemisahan dari fraksi polar dan non-polar ini kemudian akan dianalisis secara kualitatif dengan menggunakan analisa TLC (*Thin Layer Chromatography*) dan analisa kuantitatif GC (*Gas Chromatography*) untuk mengetahui kandungan xanthone dan kumarin yang terdapat dalam daun nyamplung. Skema pemisaahn fraksi polar dan non-polar pada *crude* ekstrak daun nyamplung akan ditunjukkan pada **Gambar III.2** berikut :



**Gambar III.2** Skema pemisaahn fraksi polar dan non-polar pada crude ekstrak daun nyamplung



Berdasarkan **Gambar III.2** dapat dilihat bahwa terdapat fraksi solid yaitu fraksi yang sudah tidak dapat lagi larut kedalam methanol maupun heksane. Fraksi solid tersebut juga diidentifikasi kandungan xanthone dan coumarin secara kualitatif maupun kuantitatif. Untuk mengetahui total recovery xanthone dan coumarin pada fraksi solid, maka perlu dilakukan proses *multiple extraction* dengan menggunakan jenis pelarut yang sama. Misalnya pada variabel *crude* ekstrak 3000 mg dalam pelarut methanol dan heksane 150 : 150 (gr :gr) dengan konsentrasi methanol 50%, sisa fraksi solid yang tidak larut dalam methanol maupun heksane adalah sebesar 2424 mg. Sisa fraksi solid tersebut kemudian di ekstraksi kembali dengan pelarut baru tetapi dengan jenis pelarut yang sama yaitu methanol konsentrasi 50%. Proses *multiple extraction* ini terus dilakukan samapi fraksi solid benar-benar habis. Skema *multiple extraction* pada fraksi solid akan ditunjukkan pada **Gambar III.3** berikut :



**Gambar III.3** Skema *multiple extraction* pada fraksi solid

Setelah melakukan seluruh prosedur percobaan diatas, maka dapat diketahui kondisi optimum untuk pemisahan xanthone dan coumarin dalam *crude* ekstrak.

### III.3.2.3 Analisa Xanthone dan Coumarin dengan Menggunakan TLC

Fraksi polar yang didapatkan kemudian diuji kandungan xanthone dan coumarinnya menggunakan TLC (*Thin Layer Chromatography*). TLC digunakan untuk menguji secara kualitatif keberadaan senyawa xanthone dan coumarin didalam fraksi polar ekstrak daun. Sebelum dilakukan uji TLC, mula mula kertas TLC yang telah ditetesi oleh sampel direndam dalam *mobile phase* dengan kadar n-heksane : etil asetat : asam asetat sebrsar 90:10:1 (v/v). Perendaman dalam *mobile phase* dilakukan

dalam botol tertutup rapat. Pada saat perendaman, tinggi *mobile phase* tidak diperbolehkan melebihi area batas yang telah ditentukan pada kertas TLC. Setelah perendaman, kertas TLC kemudian dikeringkan pada suhu ruang lalu dilakukan pembacaan spot menggunakan alat UV (Uvitec Cambridge) dan digunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 dan 365 nm.

#### **III.3.2.4 Analisa Xanthone dan Coumarin Menggunakan GC**

Kandungan xanthone dan coumarin dalam tiap fraksi dianalisa dengan GC. Kurva kalibrasi standar eksternal diperoleh dengan 0,2-20 mg standard murni. Analisa kromatografi dilakukan pada pelat TLC dan Shimadzu GC-2010 (Kyoto, Japan) Gas Chromatography yang dilengkapi dengan *Flame Ionization Detector*. Separasi dilakukan dengan DB-5HT (5%-phenyl)-methylpolysiloxane non-polar column (15m x 0,32mm i.d.; Agilent Tech. Palo Alto, California). Temperatur injektor dan detector diset pada suhu 370°C. Temperatur kolom dimulai pada 80 °C. 20 mg sampel dilarutkan dalam 1mL etil asetat, dan 1 µL sampel diambil dan diinjeksikan ke dalam GC.

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui cara pemisahan senyawa xanthone dan coumarin yang terkandung dalam fraksi polar dan non-polar daun nyamplung serta mengetahui pengaruh tingkat kepolaran solven terhadap pemisahan senyawa xanthone dan coumarin yang terkandung dalam fraksi polar dan non-polar daun nyamplung. Dalam penelitian ini, akan dilakukan proses pemisahan solid-liquid antara cacahan daun nyamplung dengan pelarut metanol sehingga akan diperoleh crude ekstrak daun. Selanjutnya dilakukan proses pemisahan dengan menggunakan ekstraksi liquid-liquid antara pelarut polar dengan pelarut non-polar. Pelarut polar yang digunakan adalah methanol-air sedangkan pelarut non-polar yang digunakan adalah heksane. Dari hasil tersebut akan diperoleh Polar Lipid Fraction (PLF) dan Non-Polar Liquid Fraction yang kemudian akan pemisahan dianalisa secara kualitatif dengan menggunakan metode *Thin Layer Chromatography* (TLC) dan secara kuantitatif dengan menggunakan metode GC (*Gas Chromatography*).

#### **IV.1 Pemisahan dengan Ekstraksi Solid-Liquid**

Solid yang digunakan merupakan cacahan daun nyamplung yang sudah dikeringkan dengan kadar air sebesar  $11,24 \pm 0,8\%$  dan liquid yang digunakan merupakan metanol teknis. Menurut US Food and Drugs Administration (2012), methanol dapat digunakan sebagai pelarut karena resiko kandungan beracun rendah. Penggunaan pelarut metanol pada proses ekstraksi solid-liquid ini dikarenakan % yield ekstrak daun yang diperoleh akan lebih besar dibandingkan jika menggunakan petroleum eter dan kloroform, selain itu coumarin dan xanthone termasuk ke dalam fraksi polar sehingga senyawa tersebut dapat terisolasi dari daun jika digunakan metanol (Indrakumar dkk, 2012).

Ada banyak metode yang dapat digunakan untuk mengisolasi senyawa bioaktif khususnya untuk menganalisa xanthone dan coumarin. Kemudian dilakukan analisa perbandingan metode untuk mengetahui metode yang efektif. Analisa tersebut disajikan pada **Tabel IV.1.1** berikut:

**Tabel IV.1.1** Perbandingan Metode Ekstraksi yang Digunakan

	Modified Sokhlet Extraction <sup>a</sup>	Perkolasi <sup>b</sup>	Ekstraksi Sokhlet <sup>c</sup>
Waktu treatment	11 – 12 jam	3 – 4 hari	3 – 18 jam
Ruang instalasi	Butuh tempat yang luas karena peralatan banyak	Tidak membutuhkan tempat yang luas	Tidak membutuhkan tempat yang luas
Pengoperaasian	Rumit serta langkah yang dibutuhkan cukup banyak	Mudah	Relatif mudah
Waktu yang dibutuhkan untuk konstruksi alat	Butuh waktu yang lama	Cepat	Cepat
Pemeliharaan	Sulit karena banyaknya alat	Mudah	Mudah

a. diadaptasi dari Fabian et al, 2009

b. diadaptasi dari Moelyono, 1996

c. diadaptasi dari Yunitasari, E.P., 2008

Dari hasil analisa penulis yang dikutip dari berbagai sumber pada **Tabel IV.1.1**, dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi

perkolasi merupakan metode yang efektif untuk mendapatkan *crude* ekstrak daun untuk ekstraksi solid-liquid. Perkolasi adalah cara ekstraksi berulang yang dilakukan dalam keadaan dingin. Setelah perendaman dalam waktu tertentu (3-4 hari), pelarut dikeluarkan dan bahan direndam dengan pelarut baru. Keuntungan dari metode ekstraksi perkolasi adalah tidak terjadi kejenuhan pada larutan karena pelarut diganti dengan pelarut baru setelah perendaman beberapa waktu. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Seidel, 2006).

Pada proses ekstraksi perkolasi ini digunakan 500 gr cacahan daun nyamplung kering dan menggunakan metanol sebanyak 1,5 L. Proses ekstraksi perkolasi dilakukan selama 3-4 hari perendaman hingga pelarut yang awalnya berwarna bening menjadi hijau kehitaman karena proses ekstraksi. Setelah perendaman 3-4 hari, hasil perendaman disaring dan diganti dengan pelarut yang baru. Penggantian pelarut dilakukan selama dua kali. Dari hasil ekstraksi solid-liquid tersebut akan diperoleh *crude* ekstrak daun. *Crude* ekstrak daun dari proses ekstraksi perkolasi masih terdapat banyak pelarut, sehingga harus diuapkan terlebih dahulu dengan proses distilasi. Hasil dari distilasi merupakan *crude* ekstrak daun yang akan digunakan untuk proses selanjutnya. *Yield crude* ekstrak daun yang diperoleh adalah sebesar  $1,6947 \pm 0,015\%$ .

Perhitungan yang digunakan berdasarkan dari Indrakumar (2012) dengan rumus sebagai berikut:

$$\%yield = \frac{\text{berat crude ekstrak}}{\text{berat daun nyamplung kering}} \times 100\%$$

#### IV.2 Pemurnian dengan Ekstraksi Liquid-Liquid

Setelah mendapatkan *crude* ekstrak daun, langkah selanjutnya adalah masuk ke dalam variabel. Variabel yang digunakan adalah variabel *crude* ekstrak dan konsentrasi pelarut polar. Pelarut polar yang digunakan pada percobaan ini adalah

methanol kombinasi dengan air, sedangkan untuk pelarut non-polar yang digunakan adalah heksane.

Pemilihan *solvent* polar dan non-polar ini berdasarkan *polarity index*. Menurut Sadek (2002) seperti yang ditunjukkan pada **Tabel IV.2.1**, air merupakan pelarut polar dengan *polarity index* sebesar 9, sedangkan methanol merupakan pelarut agak polar dengan *polarity index* sebesar 5,1. Heksane adalah pelarut non-polar dengan *polarity index* sebesar 0 (Sadek, 2002). Dengan dua sifat polaritas yang berbeda diharapkan senyawa polar yang terkandung dalam daun nyamplung akan terlarut pada pelarut polar begitu pun sebaliknya. Menurut Dailey (2015), air dan kombinasinya dengan pelarut organik biasa digunakan untuk mengekstraksi komponen bioaktif dari tumbuhan. Dari penelitiannya yang dilakukan untuk mengisolasi komponen bioaktif yaitu flavonoid pada kulit tanaman Macadamia, yield ekstraksi terbesar diperoleh pada penggunaan pelarut dengan konsentrasi methanol 50% dan ethanol 50%. Hal ini juga disebutkan oleh Syukriah (2014), bahwa penggunaan pelarut terbaik untuk mengekstraksi komponen bioaktif umumnya dicapai dengan menggunakan kombinasi methanol dengan air. Dengan dua sifat polaritas yang berbeda diharapkan senyawa polar yang terdapat dalam daun nyamplung akan terbawa ke dalam methanol-air, sedangkan untuk senyawa non polar akan terbawa ke dalam heksane.

**Tabel IV.2.1** Polaritas Solven (Sadek P, 2002)

Jenis Solven	Formula	Indeks Polaritas	Konstanta Dielektrik
Air	H <sub>2</sub> O	9	78,30
Acetonitrile	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N	5,8	37,50
Ethanol	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	5,2	24,30
Acetone	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	5,1	20,70
Methanol	CH <sub>4</sub> O	5,1	32,60
Heksane	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	0	1,89

Pelarut yang digunakan untuk percobaan kali ini adalah methanol kombinasi dengan air dengan konsentrasi 20;50;80; dan 99,98%. Alasan penggunaan methanol konsentrasi tersebut adalah karena menurut Wang dkk (2004) pelarut sistem biner (ethanol-air ataupun methanol-air) lebih efisien daripada mono-solven sistem (air atau methanol murni) pada ekstraksi *phenolic compounds* dengan memperhatikan polaritasnya.

Proses ekstraksi ini dimulai dengan penimbangan *crude* ekstrak sesuai dengan variabel yaitu 3000 dan 12000 mg. *Crude* ekstrak yang telah ditimbang selanjutnya dimasukkan kedalam *beaker glass* kemudian ditambahkan methanol sesuai variabel yaitu methanol konsentrasi 20;50;80; dan 99,98% sebanyak 150 gr. Campuran *crude* dan methanol ini diaduk menggunakan *stirrer* magnetik selama 30 menit. Langkah ini bertujuan agar methanol mengikat seluruh komponen polar yang ada didalam *crude*. Setelah 30 menit, ditambahkan heksane sebanyak 150 gr kedalam campuran *crude* dan methanol kemudian diaduk kembali menggunakan *stirrer* magnetik selama 30 menit. Tujuan pengadukan kembali adalah agar komponen yang agak polar sampai non-polar akan terikat didalam heksane. Dalam *beaker glass* seperti pada **Gambar IV.2.1** akan terbentuk 3 layer, layer bawah adalah *crude* yang tidak larut yang selanjutnya akan disebut sebagai fraksi solid, layer tengah adalah fraksi methanol dan layer atas adalah fraksi heksane.



**Gambar IV.2.1** Layer dalam beaker glass

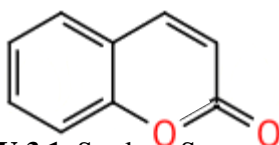
Fraksi solid yang tidak larut dipisahkan dari fraksi methanol dan heksane, kemudian fraksi methanol dan heksane dipindahkan kedalam corong pemisah. Densitas heksane (655



kg/m<sup>3</sup>) lebih kecil dibandingkan densitas methanol (791,80 kg/m<sup>3</sup>), sehingga layer atas pada corong pemisah merupakan heksane (non-polar) dan layer bawah merupakan methanol (polar). Hasil pemisahan dari fraksi polar dan non-polar ini kemudian akan dianalisis secara kualitatif dengan menggunakan analisa TLC (*Thin Layer Chromatography*) dan analisa kuantitatif GC (*Gas Chromatography*) untuk mengetahui kandungan xanthone dan kumarin yang terdapat dalam daun nyamplung.

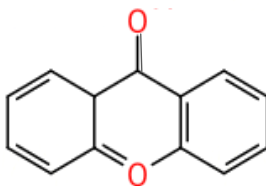
### IV.3 Standar Coumarin dan Xanthone

Coumarin merupakan biosintesis senyawa yang berasal dari jalur sikimat, atau masih sejalan dengan golongan fenil propanoid. Dari segi biogenetik, kerangka benzopiran-2-on dari coumarin berasal dari asam-asam sinamat melalui orto-hidrolaksi. Asam orto-kumarat yang dihasilkan setelah menjalani isomerisasi cis-trans mengalami kondensasi (Lenny, 2006). Berat molekul dari coumarin adalah 146,14 dan dengan titik didih sebesar 298°C. Berikut merupakan gambar struktur senyawa coumarin :



**Gambar IV.3.1.** Struktur Senyawa Coumarin

Xanthone merupakan senyawa dengan kerangka dasarnya dua fenil yang dihubungkan dengan jembatan karbonil dan oksigen (eter). Xanthone mempunyai kerangka dasar yang terdiri atas 13 atom karbon yang membentuk susunan C6-C1-C6. Biosintesis senyawa xanthone belum diketahui secara jelas namun diduga masih berhubungan dekat dengan biosintesis senyawa flavonoid dan stilbenoid. Berat molekul dari xanthone adalah 196,20 dan dengan titik didih 349-350 °C. Berikut merupakan gambar struktur senyawa xanthone :

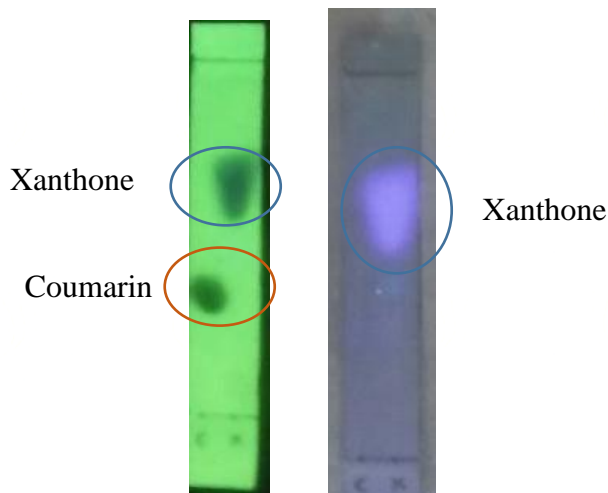


**Gambar IV.3.2.** Struktur Senyawa Xanthone

Jika dilihat dari sifat kepolarannya, coumarin bersifat lebih polar dibandingkan dengan xanthone. Hal ini dapat dilihat dari hasil *Thin Layer Chromatography* (TLC) yang menunjukkan semakin polar suatu senyawa, lokasi spot sampel akan berada di bawah, dibandingkan dengan sampel non-polar yang berada diposisi lebih atas.

#### **IV.4 Hasil Analisa Thin Layer Chromatography (TLC)**

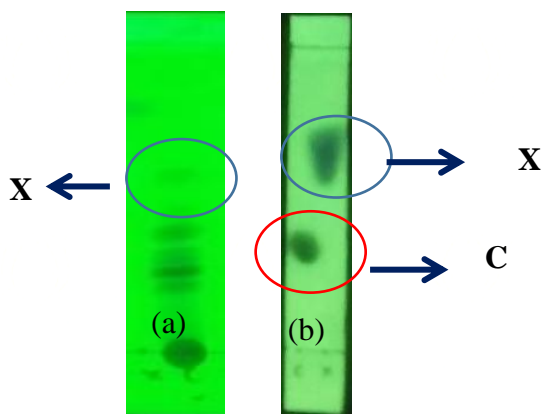
Analisa *Thin Layer Chromatography* ini merupakan analisa secara kualitatif. Hasil dari analisa ini dapat dilihat apakah pada fraksi polar dan non-polar memiliki senyawa coumarin dan xanthone. Identifikasi coumarin dan xanthone dalam ekstrak daun nyamplung dilakukan dengan meneteskan sampel dan larutan standar pada kertas TLC dan kemudian melihat hasil spot sampel dengan lampu UV. Menurut Alegantina (2010), spot standar coumarin akan terbaca dengan menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 366 nm dengan bercak berwarna biru flourensi. Sedangkan, senyawa xanthone terlihat spotnya pada panjang gelombang 254 nm (Yanti, 2004). Berdasarkan **Gambar IV.4.1** dapat dilihat bahwa penggunaan panjang gelombang 254 nm karena spot xanthone dan coumarin terlihat jelas dengan warna spot kehijauan. Pada panjang gelombang 365 nm, spot xanthone terlihat jelas dengan warna biru flourensi, sedangkan spot coumarin tidak terlihat.



**Gambar IV.4.1** Spot Xanthone dan Coumarin pada Panjang Gelombang 254 nm (a) dan 365 nm (b)




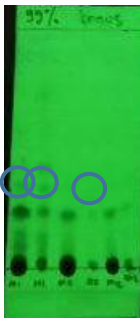
Pada penelitian ini digunakan mobile phase dengan perbandingan antara heksane : etil asetat : asam asetat sebesar 90:10:1, v/v/v. Perbandingan *mobile phase* tersebut sudah sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa untuk analisa TLC komponen bioaktif xanthone dan coumarin pada panjang gelombang 254 nm dapat digunakan *mobile phase* dengan perbandingan heksane : etil asetat sebesar 70:30 , 30:10 (v/v) (Awale dkk,2006) atau 5:1; 9:1 (v/v) (Chen dkk,2004).

Berikut ini merupakan gambar hasil TLC untuk *crude* ekstrak dan sampel variabel percobaan yaitu 3000 dan 12000 mg *crude* ekstrak masing-masing dalam methanol konsentrasi 20; 50; 80; dan 99,98%.



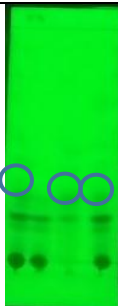



**Gambar IV.4.2** Hasil TLC *Crude* ekstrak daun (a) dan larutan standar xanthone dan coumarin (b) dengan menggunakan *Mobile Phase* heksane : etil asetat : asam asetat sebesar 90:10:1

Analisis suatu senyawa dalam TLC biasanya dilakukan dengan dibandingkan terhadap senyawa standarnya. Nilai  $R_f$  (*-Retardation factor*) digunakan untuk mengkuantitaskan perpindahan dari suatu material sepanjang plate.  $R_f$  sebanding dengan jarak yang berpindah dari suatu solven. Biasanya nilainya diantara nol dan satu. Umumnya efektif solvent memiliki nilai  $R_f$  antara 0.3-0,7. Secara ideal, nilai  $R_f$  akan sama dari senyawa yang diberikan dengan menggunakan pelarut yang sama. Untuk larutan standar coumarin dan xanthone pada **Gambar IV.4.2** (b) memiliki nilai  $R_f$  masing-masing sebesar 0,28 dan 0,56. Nilai  $R_f$  ini akan digunakan sebagai patokan untuk menentukan spot xanthone dan coumarin sesuai variabel penelitian. Pada **Gambar IV.4.2** spot xanthone pada *crude* ekstrak terlihat sejajar dengan spot xanthone pada larutan standar, sehingga terdapat kemungkinan *crude* ekstrak daun yang digunakan untuk penelitian ini mengandung xanthone. Sedangkan spot coumarin tidak terlihat begitu jelas kemungkinan dikarenakan jumlahnya yang lebih kecil daripada komponen lain.

Variabel 3000 mg <i>crude</i> ekstrak			
			
Methanol 20%	Methanol 50%	Methanol 80%	Methanol 99,98%

**Gambar IV.4.3** Hasil analisa TLC variabel 3000 mg *crude* ekstrak pada berbagai konsentrasi methanol

Variabel 12000 mg <i>crude</i> ekstrak			
			
Methanol 20%	Methanol 50%	Methanol 80%	Methanol 99,98%

**Gambar IV.4.4** Hasil analisa TLC variabel 12000 mg *crude* ekstrak pada berbagai konsentrasi methanol

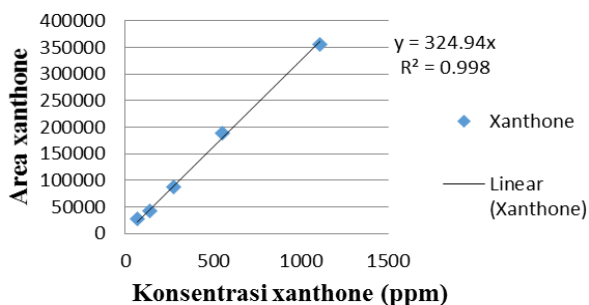
**Gambar IV.4.4** merupakan hasil analisa TLC untuk spot xanthone dan coumarin pada berbagai variabel. Pada kertas TLC tersebut ditetaskan sampel pada 4 buah titik yaitu untuk *crude* (1), fraksi methanol (2), fraksi heksane (3) dan fraksi solid (4) untuk membandingkan apakah terdapat xanthone dan coumarin pada masing-masing fraksi tersebut. X merupakan tanda untuk xanthone. Berdasarkan perbandingan nilai Rf pada larutan standar xanthone dan coumarin dengan berbagai variabel diatas, secara kualitatif dengan menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dapat terlihat keberadaan spot xanthone yang sama dengan spot xanthone pada fraksi heksane (non-polar) daun nyamplung. Pada fraksi methanol (polar) hampir semua variabel tidak terdapat spot xanthone dengan jelas, sehingga dapat diindikasikan bahwa terjadi pemisahan xanthone dalam crude ekstrak menuju ke fraksi non-polar karena sifatnya yang kurang polar daripada coumarin. Pada seluruh variabel tidak terdapat spot coumarin dengan jelas berada di fraksi methanol ataupun heksane kemungkinan dikarenakan jumlahnya yang lebih kecil daripada komponen lain. Dari hasil TLC tersebut juga terdapat spot xanthone pada beberapa variabel di fraksi solid. Maka dapat diindikasikan bahwa masih terdapat xanthone di fraksi solid. Untuk selanjutnya akan dilakukan ekstraksi berlanjut untuk pemisahan xanthone dan coumarin pada fraksi solid.

#### **IV.5 Hasil Analisa Gas Chromatography (GC)**

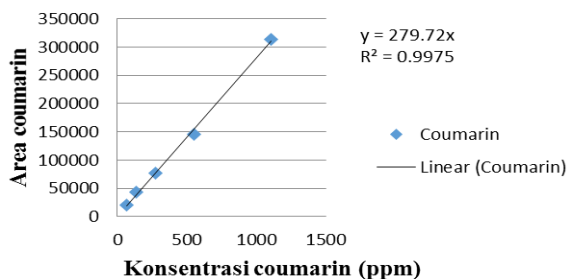
Analisa GC dilakukan untuk mengetahui secara kuantitatif kandungan xanthone dan coumarin. Kandungan xanthone dan coumarin dalam tiap fraksi dianalisa dengan GC. Kurva kalibrasi standar eksternal diperoleh dengan 0,2-20 mg standard murni. Analisa kromatografi dilakukan pada pelat TLC dan Shimadzu GC-2010 (Kyoto, Japan) Gas Chromatography yang dilengkapi dengan *Flame Ionization Detector*. Separasi dilakukan dengan DB-5HT (5%-phenyl)-methylpolysiloxane non-polar column (15m x 0,32mm i.d.; Agilent Tech. Palo Alto, California). Temperatur injektor dan detector diset pada suhu 370°C.

Temperatur kolom dimulai pada 80 °C. 20 mg sampel dilarutkan dalam 1mL etil asetat, dan 1 µL sampel diambil dan diinjeksikan ke dalam GC.

Sebelum menganalisa sampel sesuai dengan variabel, perlu dilakukan standarisasi xanthone dan coumarin dengan menggunakan kurva kalibrasi. Pada penelitian ini, digunakan kurva kalibrasi seperti pada **Gambar IV.5.1** dan **Gambar IV.5.2** yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan standar xanthone dan coumarin dengan area xanthone dan coumarin pada hasil GC. Area ini akan digunakan sebagai patokan untuk kalibrasi xanthone dan coumarin. Konsentrasi larutan standar untuk xanthone dan coumarin dalam pelarut etil asetat masing-masing yaitu 1; 0,5; 0,25; 0,125; dan 0,0625 mg/ml etil asetat.



**Gambar IV.5.1** Kurva Kalibrasi Xanthone



**Gambar IV.5.2** Kurva Kalibrasi Coumarin

Dari kurva kalibrasi pada **Gambar IV.5.1 dan IV.5.2** yang dihasilkan dari berbagai konsentrasi tersebut, kemudian hasil pengukuran konstanta kalibrasi xanthone dan coumarin masing-masing digunakan untuk menentukan konsentrasi sampel sesuai variabel dengan cara pembagian antara area dari hasil GC dengan hasil konstanta kalibrasi. Dari hasil kurva kalibrasi didapatkan nilai konstanta kalibrasi untuk xanthone 324,94 dan coumarin 279,72. Selain area, dari hasil kalibrasi larutan standar xanthone dan coumarin, juga didapatkan *retention time* yaitu jumlah waktu saat sampel disuntikkan sampai pertama kali xanthone dan coumarin muncul. Dari hasil kalibrasi, didapatkan *retention time* untuk coumarin yaitu pada menit ke 8,646 dan untuk xanthone yaitu pada menit ke 12,211. *Retention time* tersebut juga digunakan sebagai patokan xanthone dan coumarin pada sampel saat pertama kali muncul.

Sampel yang akan dianalisa dengan menggunakan GC adalah sampel dengan variabel *crude* ekstrak sebanyak 3000 mg dan 12000 mg dalam pelarut polar dan non-polar dengan konsentrasi pelarut polar (methanol) yaitu 20;50;80 dan 99,98%. Setelah pemisahan dalam corong pemisah antara fraksi polar yaitu methanol dan fraksi non-polar yaitu heksane, maka masing-masing fraksi tersebut diuapkan untuk mengetahui berat (mg) masing-masing. Setelah diuapkan, masing-masing fraksi ditimbang sebanyak 0,02 mg dan dilarutkan kedalam 1 mL etil asetat untuk persiapan analisa GC. Berikut merupakan hasil



analisa GC untuk variabel 3000 mg *crude* ekstrak dalam berbagai variabel konsentrasi methanol :

**Tabel IV.5.1** Hasil Analisa GC Fraksi Polar (Methanol) pada *Crude* ekstrak 3000 mg

Konsentrasi methanol (%)	Komponen	RT (menit)	Konsentrasi (ppm)	% wt	Massa (mg)
20	Coumarin	8,63 ± 0,0007	2,80 ± 0,40	0,011 ± 0,007	0,02 ± 0,01
	Xanthone	12,23 ± 0,0052	0,34 ± 0,33	0,001 ± 0,002	0,002 ± 0,002
50	Coumarin	8,62 ± 0,01	73,09 ± 3,13	0,026 ± 0,02	0,80 ± 0,07
	Xanthone	12,20 ± 0,05	30,39 ± 2,0	0,13 ± 0,06	0,44 ± 0,22
80	Coumarin	8,58 ± 0,03	13,85 ± 1,49	0,06 ± 0,03	1,03 ± 0,55
	Xanthone	12,11 ± 0,0002	19,30 ± 1,12	0,08 ± 0,04	1,45 ± 0,79
99,98	Coumarin	8,59 ± 0,02	12,12 ± 2,97	0,04 ± 0,02	0,56 ± 0,28
	Xanthone	12,09 ± 0,007	19,32 ± 1,64	0,07 ± 0,03	0,89 ± 0,48

**Tabel IV.5.2** Hasil Analisa GC Fraksi Non-polar (Heksane) pada *Crude* ekstrak 3000 mg

Konsentrasi methanol (%)	Komponen	RT (menit)	Konsentrasi (ppm)	% wt	Massa
					(mg)
20	Coumarin	8,606 ± 0,01	9,47 ± 0,49	0,04 ± 0,02	0,06 ± 0,03
	Xanthone	12,115 ± 0,11	32,52 ± 4,5	0,13 ± 0,07	0,22 ± 0,11
50	Coumarin	8,642 ± 0,001	5,97 ± 2,48	0,29 ± 0,14	0,07 ± 0,03
	Xanthone	12,116 ± 0,05	171,56 ± 23,11	0,69 ± 0,13	1,65 ± 0,81
80	Coumarin	8,595 ± 0,04	4,36 ± 0,66	0,09 ± 0,01	1,11 ± 0,05
	Xanthone	12,12 ± 0,01	55,50 ± 8,62	0,27 ± 0,14	1,41 ± 0,74
99,98	Coumarin	8,586 ± 0,05	14,93 ± 4,93	0,05 ± 0,02	0,54 ± 0,29
	Xanthone	12,272 ± 0,008	14,36 ± 0,26	0,05 ± 0,03	0,51 ± 0,44

**Tabel IV.5.1** dan **IV.5.2** adalah tabel hasil analisa GC untuk sampel *crude* ekstrak 3000 mg dengan variabel konsentrasi methanol 20; 50; 80; dan 99,98%. Dari hasil analisa didapatkan data berupa *retention time* dan area yang akan

digunakan untuk menentukan konsentrasi, %wt (kadar kemurnian), dan massa senyawa xanthone serta coumarin.

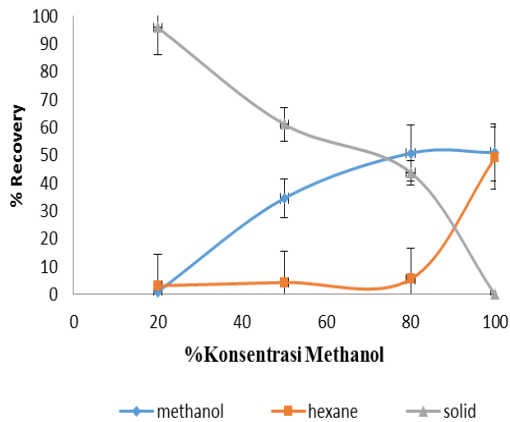
Seperti yang telah diketahui sebelumnya jika salah satu tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh tingkat kepolaran solven terhadap pemisahan senyawa xanthone dan coumarin yang terkandung dalam fraksi polar dan non-polar daun nyamplung. Kombinasi pelarut methanol dengan air diharapkan mampu melarutkan komponen polar yang terdapat dalam *crude* ekstrak daun nyamplung, sedangkan pelarut non-polar yaitu heksane diharapkan mampu melarutkan komponen non-polar dalam *crude* ekstrak daun nyamplung. Gugus rantai karbon dari senyawa coumarin lebih pendek dibandingkan dengan senyawa xanthone. Sehingga dapat diketahui bahwa senyawa coumarin bersifat lebih polar dibandingkan dengan senyawa xanthone. Maka diharapkan senyawa coumarin dapat terikut lebih banyak pada fraksi polar yaitu methanol dan senyawa xanthone pada fraksi non-polar yaitu heksane.

Hasil penelitian berdasarkan **Tabel IV.5.1** dan **Tabel IV.5.2** dilihat dari massa komponen yang terdapat dalam masing-masing fraksi, pada variabel methanol 50% merupakan variabel yang sesuai untuk pemisahan xanthone dan coumarin. Hal ini dapat dilihat dari massa coumarin pada fraksi methanol ( $0,8073 \pm 0,07$  mg) lebih besar daripada massa coumarin pada fraksi heksane ( $0,0717 \pm 0,03$  mg), sedangkan massa xanthone pada fraksi methanol ( $0,444 \pm 0,22$  mg) lebih kecil daripada massa xanthone dalam fraksi heksane ( $1,6471 \pm 0,81$  mg). Coumarin yang lebih polar akan banyak terikut dalam fraksi methanol, sedangkan xanthone yang kurang polar daripada coumarin akan banyak terikut pada fraksi heksane. Pada variabel methanol 20% massa coumarin lebih banyak terdapat pada fraksi heksane dimana seharusnya massa coumarin akan lebih banyak berada pada fraksi methanol. Pada variabel methanol 80 dan 99,98% tidak terjadi pemisahan karena massa coumarin dan xanthone pada fraksi methanol maupun heksane hampir sama besarnya.

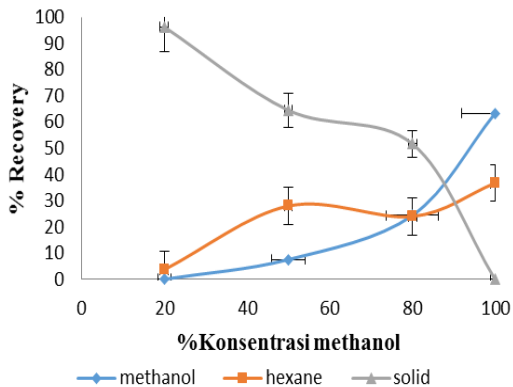
Selain fraksi methanol dan fraksi heksane, terdapat fraksi solid yaitu *crude* ekstrak yang tidak dapat lagi larut dalam methanol konsentrasi dan heksane. Pada fraksi solid juga dianalisa dengan GC untuk mengetahui berapa xanthone dan coumarin yang masih terdapat pada fraksi solid. Berikut merupakan hasil analisa GC untuk % recovery xanthone dan coumarin pada fraksi methanol, heksane dan solid dimana % recovery merupakan perbandingan antara massa komponen dalam masing-masing fraksi dengan massa komponen dalam *crude* ekstrak.

**Tabel IV.5.3** Hasil % Recovery Xanthone dan Coumarin Fraksi Methanol, Heksane dan Solid pada *Crude* Ekstrak 3000 mg

Konsentrasi methanol (%)		Fraksi Methanol		Fraksi Heksane		Fraksi solid	
		Coumarin	Xanthone	Coumarin	Xanthone	Coumarin	Xanthone
20	% wt	0,01%	0,001%	0,04%	0,13%	0,06%	0,19%
	% recovery	0,96%	0,04%	3,13%	3,70%	95,90%	96,26%
50	% wt	0,03%	0,13%	0,29%	0,69%	0,04%	0,13%
	% recovery	34,56%	7,55%	4,30%	27,97%	61,13%	64,48%
80	% wt	0,06%	0,08%	0,02%	0,27%	0,03%	0,10%
	% recovery	50,74%	24,38%	5,46%	23,96%	43,79%	51,66%
99,98	% wt	0,04%	0,07%	0,05%	0,05%	-	-
	% recovery	51,00%	63,29%	48,99%	36,71%	-	-



**IV.5.3** % Recovery Coumarin dalam Fraksi Methanol, Heksane dan Solid pada *Crude* Ekstrak 3000 mg



**Gambar IV.5.4** % Recovery Xanthone dalam Fraksi Methanol, Heksane dan Solid pada *Crude* Ekstrak 3000 mg

**Gambar IV.5.3** dan **IV.5.4** merupakan hubungan antara % konsentrasi methanol dengan % recovery untuk xanthone dan coumarin pada masing-masing fraksi. Pada variabel konsentrasi methanol 50%, terjadi pemisahan coumarin dimana % recovery coumarin pada fraksi methanol lebih besar dari % recovery pada

fraksi heksane. Hal ini menunjukkan bahwa coumarin bersifat lebih polar sehingga akan banyak larut dalam pelarut polar (methanol konsentrasi). Methanol konsentrasi 20% (20% methanol – 80% air) lebih polar daripada methanol 50%. Dari **Gambar IV.5.3** dapat dilihat bahwa % recovery coumarin pada fraksi methanol dan heksane pada variabel 20% lebih kecil daripada variabel 50%. Artinya bahwa coumarin lebih banyak larut dalam methanol 50%. Selain itu, penggunaan pelarut methanol 20% menyebabkan % recovery xanthone dan coumarin pada fraksi solid masih sangat besar, sehingga dapat dikatakan bahwa pelarut methanol 20% bersifat lebih polar daripada *crude* ekstrak sehingga tidak dapat mengekstrak xanthone dan coumarin di *crude* ekstrak dengan maksimal. Pada variabel 80%, % recovery xanthone dan coumarin pada fraksi solid semakin kecil, sedangkan pada variabel 99,98% tidak ada % recovery pada fraksi solid, sehingga dapat dikatakan bahwa semakin murni pelarut methanol yang digunakan maka akan semakin bagus untuk mengekstraksi xanthone dan coumarin dari *crude* ekstrak daun nyamplung. Tetapi hal ini menyebabkan tidak terjadi pemisahan dengan baik karena pada pelarut methanol 80%, % recovery xanthone di fraksi methanol dan heksane masih sama besar sehingga dapat dikatakan xanthone pada variabel 80% tidak terpisah. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada saat pemisahan methanol dan heksane dalam corong pemisah, masih banyak heksane yang mengandung xanthone terikut kedalam methanol sehingga menyebabkan recovery xanthone dalam methanol dan heksane sama besarnya. Hal ini juga terjadi pada variabel konsentrasi methanol 99,98% dimana xanthone dan coumarin pada fraksi methanol dan heksane tidak terpisah dilihat dari % recovery nya yang sama besar, sehingga dapat dikatakan bahwa penggunaan pelarut konsentrasi methanol 99,98% memiliki polaritas yang sama dengan polaritas *crude* ekstrak sehingga menyebabkan xanthone dan coumarin dalam *crude* ekstrak tidak terpisah.

Hasil dari penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang mengatakan bahwa perbedaan jenis solvent sangat berpengaruh terhadap % recovery dari komponen bioaktif seperti *Total Phenolic Compound* (TPC) dan total flavonoid, dimana % recovery terbaik untuk komponen bioaktif adalah pada penggunaan kombinasi air dengan pelarut organik (methanol, ethanol, acetonitrile, dll) sebesar 30-60% (Wang dkk,2004). Perbedaan ini dapat dijelaskan dari perbedaan konstanta dielektrik dan *index polarity* yang sesuai pada **Tabel IV.2.1** yang menunjukkan beberapa jenis solven berdasarkan indeks polaritas dan konstanta dielektriknya. Konstanta dielektrik pelarut adalah besarnya gaya yang bekerja antara dua muatan itu dalam pelarut. Konstanta ini menentukan sampai mana tingkat kemampuan melarutkan pelarut itu. Pelarut-pelarut yang mempunyai tetapan dielektrik rendah merupakan pelarut yang baik untuk zat-zat yang non-polar dan pelarut-pelarut yang mempunyai tetapan dielektrik yang tinggi merupakan pelarut yang baik untuk zat-zat yang polar (Effendy, 2006). Air merupakan pelarut yang sangat polar sehingga dapat digunakan untuk melarutkan senyawa polar dalam *crude* ekstrak daun nyamplung, tetapi menurut Wang dkk (2004) pelarut sistem biner (ethanol-air ataupun methanol-air) lebih efisien daripada mono-solven sistem (air atau methanol murni) pada ekstraksi *phenolic compounds* dengan memperhatikan polaritasnya.

Variabel yang selanjutnya digunakan adalah 12000 mg *crude* ekstrak dengan konsentrasi methanol sama pada variabel sebelumnya yaitu 20; 50; 80; dan 99,98% dengan perbandingan pelarut methanol : pelarut heksane sebesar 150 : 150 (gr/gr). Berikut adalah hasil analisa GC pada sampel *crude* ekstrak 12000 mg:

**Tabel IV.5.4** Hasil Analisa GC Fraksi Polar (Methanol)  
pada *Crudee* ekstrak  
12000 mg

Konsentrasi methanol (%)	Komponen	RT (menit)	Konsentrasi (ppm)	% wt	massa komponen (mg)
20	coumarin	8,60 ± 0,009	13,95 ± 3,03	0,05 ± 0,02	0,08 ± 0,01
	xanthone	12,14 ± 0,10	9,92 ± 4,11	0,04 ± 0,03	0,06 ± 0,04
50	coumarin	8,63 ± 0,006	7,02 ± 4,75	0,03 ± 0,02	0,27 ± 0,20
	xanthone	12,19 ± 0,02	6,19 ± 2,66	0,02 ± 0,01	0,24 ± 0,19
80	coumarin	8,63 ± 0,05	12,49 ± 2,84	0,05 ± 0,02	1,27 ± 0,65
	xanthone	12,17 ± 0,001	4,03 ± 0,61	0,02 ± 0,01	0,41 ± 0,26
99,98	coumarin	8,62 ± 0,01	22,89 ± 3,27	0,09 ± 0,05	2,23 ± 1,43
	xanthone	12,14 ± 0,01	27,69 ± 4,09	0,11 ± 0,07	2,69 ± 1,74

**Tabel IV.5.5** Hasil Analisa GC Fraksi Non-polar  
(Heksane) pada *Crude* ekstrak 12000 mg

Konsentrasi methanol (%)	Komponen	RT (menit)	Konsentrasi (ppm)	% wt	Massa (mg)
20	coumarin	8,67 ± 0,01	31,83 ± 2,51	0,10 ± 0,05	0,82 ± 0,44
	xanthone	12,16 ± 0,03	88,58 ± 5,78	0,28 ± 0,20	2,27 ± 1,64
50	coumarin	0	0	0	0
	xanthone	12,14 ± 0,01	119,83 ± 2,80	0,39 ± 0,23	2,85 ± 1,67
80	coumarin	8,65 ± 0,04	27,60 ± 3,93	0,11 ± 0,06	0,71 ± 0,37
	xanthone	12,13 ± 0,01	52,39 ± 0,32	0,22 ± 0,12	1,35 ± 0,78
99,98	coumarin	8,64 ± 0	29,86 ± 3,81	0,09 ± 0,06	1,03 ± 0,65
	xanthone	12,15 ± 0,04	138,55 ± 10,83	0,45 ± 0,24	4,76 ± 2,60

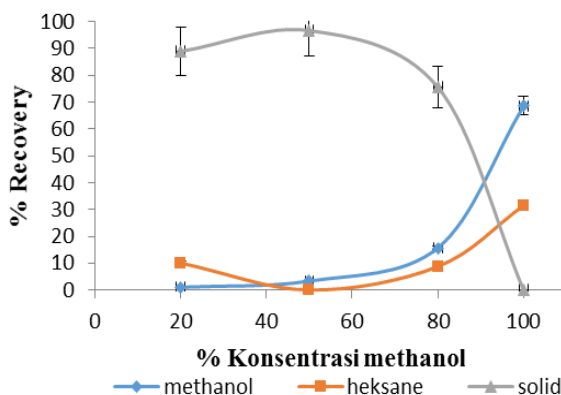
Hasil penelitian berdasarkan **Tabel IV.5.4** dan **IV.5.5** dapat dilihat bahwa pada variabel methanol 50% merupakan variabel

yang sesuai untuk pemisahan xanthone dan coumarin. Hal ini dapat dilihat dari massa coumarin pada fraksi methanol sebesar  $0,27 \pm 0,2$  mg dan tidak ada coumarin pada fraksi heksane, sedangkan massa xanthone pada fraksi methanol ( $0,2402 \pm 0,19$  mg) lebih kecil daripada massa xanthone dalam fraksi heksane ( $2,8537 \pm 1,67$  mg). Coumarin yang lebih polar akan banyak terikut dalam fraksi methanol, sedangkan xanthone yang kurang polar daripada coumarin akan banyak terikut pada fraksi heksane. Pada variabel methanol 20% massa coumarin lebih banyak terdapat pada fraksi heksane dimana seharusnya massa coumarin akan lebih banyak berada pada fraksi methanol. Pada variabel methanol 80%, terjadi pemisahan dimana massa coumarin di fraksi methanol lebih besar daripada fraksi heksane, dan massa xanthone berada lebih besar di fraksi heksane daripada fraksi methanol, tetapi pemisahan pada variabel ini masih kurang bagus dibandingkan dengan variabel 50%. Pada variabel 99,98% tidak terjadi pemisahan karena massa coumarin dan xanthone pada fraksi methanol maupun heksane hampir sama besarnya. Sama seperti pada variabel *crude* ekstrak 3000 mg, fraksi solid pada variabel 12000 mg juga dilakukan analisa GC untuk mengetahui perbandingan %recovery xanthone dan coumarin pada fraksi methanol, heksane, dan fraksi solid.

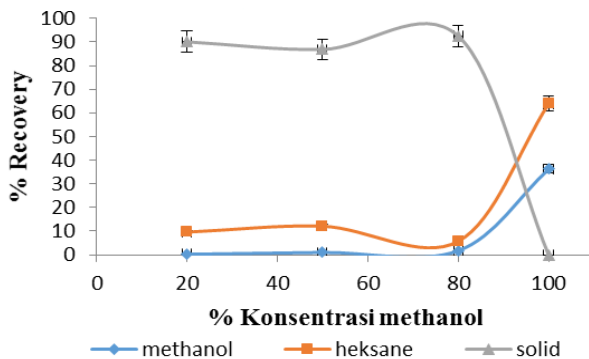


**Tabel IV.5.6** Hasil % Recovery Xanthone dan Coumarin  
Frkasi Methanol, Heksane dan Solid pada *Crude* Ekstrak 12000  
mg

Konsentrasi methanol (%)		Fraksi Methanol		Fraksi Heksane		Fraksi solid	
		coumarin	xanthone	coumarin	Xanthone	coumarin	xanthone
20	% wt	0,05%	0,04%	0,10%	0,28%	0,09%	0,29%
	% recovery	1,04%	0,26%	10,05%	9,65%	88,90%	90,09%
50	% wt	0,03%	0,02%	0%	0,39%	0,08%	0,23%
	% recovery	3,35%	1,02%	0%	12,12%	96,65%	86,86%
80	% wt	0,05%	0,02%	0,12%	0,22%	0,09%	0,25%
	% recovery	15,69%	1,74%	8,74%	5,72%	75,56%	92,5%
99,98	% wt	0,09%	0,11%	0,09%	0,45%	-	-
	% recovery	68,52%	36,20%	31,48%	63,79%	-	-



**Gambar IV.5.5** % Recovery Coumarin dalam Fraksi  
Methanol, Heksane dan Solid pada *Crude* Ekstrak 12000 mg



**Gambar IV.5.6** % Recovery Xanthone dalam Fraksi Methanol, Heksane dan Solid pada *Crude* Ekstrak 12000 mg

**Gambar IV.5.5** dan **IV.5.6** merupakan hubungan antara % konsentrasi methanol dengan % recovery untuk xanthone dan coumarin pada masing-masing fraksi. Pada variabel konsentrasi methanol 50%, terjadi pemisahan coumarin dimana % recovery coumarin berada pada fraksi methanol dan tidak ada coumarin pada fraksi heksane. Hal ini menunjukkan bahwa coumarin bersifat lebih polar sehingga akan banyak larut dalam pelarut polar (methanol konsentrasi). Methanol konsentrasi 20% (20% methanol – 80% air) lebih polar daripada methanol 50%. Dari **Grafik IV.5.5** dapat dilihat bahwa pada variabel 20%, % recovery coumarin pada fraksi methanol lebih kecil daripada % recovery pada fraksi heksane. Sehingga dapat dikatakan bahwa pelarut methanol konsentrasi 20% memiliki sifat yang lebih polar daripada polaritas coumarin didalam crude ekstrak. Selain itu, penggunaan pelarut methanol 20% menyebabkan %recovery coumarin pada fraksi solid masih sangat besar, sehingga dapat dikatakan bahwa pelarut methanol 20% bersifat lebih polar daripada coumarin sehingga tidak dapat mengekstrak coumarin di crude ekstrak dengan maksimal. Untuk pemisahan senyawa coumarin pada fraksi methanol dan heksane pada variabel konsentrasi methanol 80 dan 99,98% tidak terjadi pemisahan

dengan baik. Karena pada variabel tersebut % recovery coumarin pada fraksi methanol hampir sama besar dengan % recovery pada fraksi heksane

Dari hasil penelitian ini untuk variabel 3000 dan 12000 mg selain terdapat fraksi methanol dan heksane juga terdapat fraksi solid yang tidak larut dalam kedua fraksi tersebut. Kandungan xanthone dan coumarin pada fraksi solid variabel 3000 dan 12000 mg masih sangat besar. Hal ini dapat dilihat dari % recovery xanthone dan coumarin pada **Tabel VI.5.3** dan **Tabel IV.5.6** dimana % recovery xanthone dan coumarin pada fraksi solid lebih besar daripada fraksi methanol dan heksane, sehingga perlu dilakukan ekstraksi kembali untuk mendapatkan % recovery yang lebih besar pada fraksi methanol dan heksane. Dipilih fraksi solid dari variabel 3000 mg dengan konsentrasi methanol 50% untuk dilakukan ekstraksi kembali karena pada variabel ini terjadi pemisahan yang lebih bagus daripada variabel crude ekstrak 12000 mg dengan konsentrasi methanol 50%. Sisa fraksi solid variabel 3000 mg sebesar 2424,4 mg diekstraksi dengan pelarut yang sama yaitu methanol sebagai pelarut polar dan heksane sebagai pelarut non-polar dengan perbandingan 150:150 (gr/gr). Pelarut polar yang digunakan yaitu methanol dengan konsentrasi 50% (50% methanol : 50% air). Ekstraksi dilakukan dalam *beaker glass* dengan pengadukan menggunakan *magnetik stirer* selama 30 menit. Setelah ekstraksi selesai akan terbentuk tiga layer yaitu layer bawah yang tidak larut yang selanjutnya akan disebut sebagai fraksi solid, layer tengah adalah fraksi methanol dan layer atas adalah fraksi heksane. Ekstraksi dilakukan berulang dengan pelarut baru sampai fraksi solid habis. Hasil dari ketiga fraksi tersebut dilakukan analisa GC untuk mengetahui secara kuantitatif kadar dan % recovery dari xanthone dan coumarin. Berikut hasil ekstraksi berlanjut dari fraksi solid 2424,4 mg yang telah dilakukan sebanyak 6 kali :

**Tabel IV.5.7** Hasil Perhitungan % Wt dan % Recovery  
Xanthone dan Coumarin Pada Fraksi Methanol, Heksane, dan  
Solid untuk Ekstraksi Lanjutan

Stage		Fraksi Methanol		Fraksi Heksane		Fraksi Solid	
		Coumarin	Xanthone	Coumarin	Xanthone	Coumarin	Xanthone
1	% wt	0,24%	0,13%	0,03%	0,70%	0,05%	0,16%
	% recovery	39,75%	7,55%	3,60%	27,97%	61,13%	64,48%
2	% wt	0,04%	0,03%	0,01%	0,62%	0,06%	0,17%
	% recovery	5,37%	1,20%	0,91%	22,34%	54,85%	58,15%
3	% wt	0,04%	0,03%	0,01%	0,15%	0,09%	0,22%
	% recovery	4,91%	1,06%	3,26%	16,81%	46,68%	40,28%
4	% wt	0,04%	0,08%	0,09%	0,29%	0,10%	0,24%
	% recovery	4,53%	2,72%	7,48%	8,58%	34,66%	28,98%
5	% wt	0,02%	0,06%	0,02%	0,22%	0,18%	0,33%
	% recovery	1,47%	1,55%	2,50%	7,83%	30,69%	19,60%
6	% wt	0,00%	0,03%	0,25%	0,46%	-	-
	% recovery	0,24%	0,48%	10,50%	19,12%	-	-

**Tabel IV.5.7** merupakan hasil perhitungan % Wt dan % recovery xanthone dan coumarin pada fraksi methanol, heksane, dan solid untuk ekstraksi lanjutan. Ekstraksi dilakukan sampai dengan 6 stage karena fraksi solid dari stage terakhir telah habis. Berdasarkan **Tabel IV.5.7** dapat dilihat bahwa recovery xanthone dan coumarin pada fraksi solid semakin rendah. Sehingga dapat diindikasikan bahwa semakin banyak xanthone dan coumarin yang terikut pada fraksi methanol dan heksane. Dari **Tabel IV.5.7** dapat ditentukan besarnya % recovery total untuk mengetahui total distribusi xanthone dan coumarin pada fraksi methanol dan heksane.

**Tabel IV.5.8** Hasil % Total Recovery Xanthone dan Coumarin Pada Fraksi Methanol dan Heksane Untuk Ekstraksi Lanjutan

	Fraksi Methanol		Fraksi Heksane	
	Coumarin	Xanthone	Coumarin	Xanthone
% wt	0,089%	0,067%	0,0568%	0,3508%
% recovery	81,18%	18,09%	18,82%	81,91%

Berdasarkan **Tabel IV.5.8** dapat dilihat bahwa % total recovery coumarin terbesar berada pada fraksi methanol yaitu sebesar 81,18%, % total recovery xanthone terbesar berada pada fraksi heksane yaitu sebesar 81,91%. Sehingga dapat diindikasikan bahwa dengan *multiple extraction* terjadi pemisahan xanthone dan coumarin pada variabel 3000 mg *crude* ekstrak daun nyamplung dalam methanol konsentrasi 50%. Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa coumarin akan cenderung larut dalam pelarut polar yaitu methanol, sedangkan xanthone akan cenderung larut dalam pelarut non-polar yaitu heksane.

#### **IV.6 Analisa Pengaruh Variabel Terhadap Hasil Penelitian**

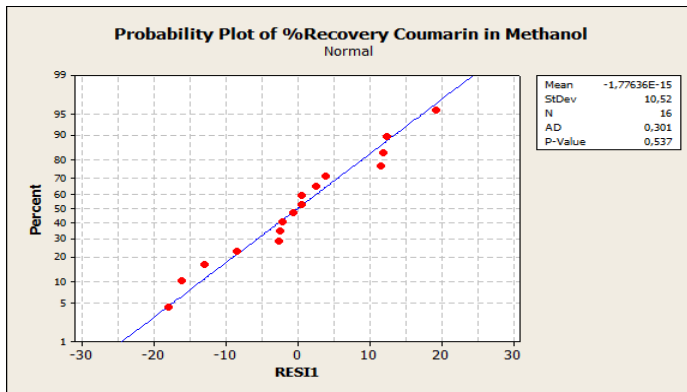
Dengan hasil yang didapatkan dari penelitian ini, maka untuk mengetahui variabel-variabel yang memiliki pengaruh paling signifikan dapat digunakan bantuan software minitab 16. Dengan mengetahui variabel yang memiliki pengaruh paling signifikan, maka akan semakin mudah untuk memaksimalkan variabel respon yang diinginkan. Berikut merupakan hasil analisa dengan minitab 16 :

**Tabel IV.6.1** Hasil Urutan Percobaan dengan  
Menggunakan Minitab 16

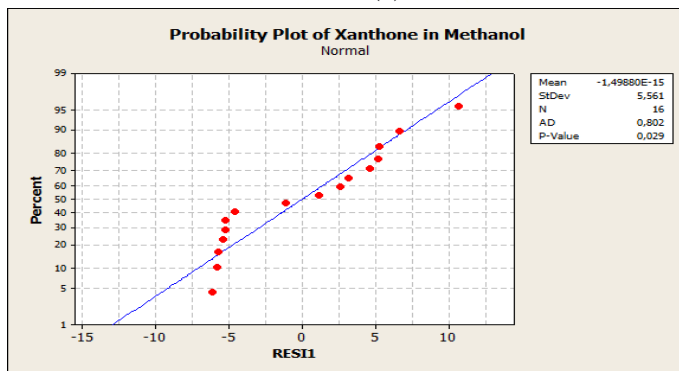
Run	Variabel Crude Gr	Variabel Konsentrasi Methanol (%)	% Recovery dalam methanol		% Recovery dalam heksane	
			Coumarin	Xanthone	Coumarin	Xanthone
1	3	20	0,96	0,04	3,12	3,7
2	3	20	1,16	0,09	2,89	2,97
3	3	50	4,3	7,54	34,56	27,97
4	3	50	7,49	4,02	32,9	22,64
5	3	80	50,74	24,37	5,45	23,96
6	3	80	43	22,37	4,28	18,69
7	3	99,98	51	63,28	48,97	36,71
8	3	99,98	43,29	46,88	56,71	53,12
9	12	20	1,04	0,255	10,05	9,64
10	12	20	4,33	0,4	8,91	13,61
11	12	50	3,35	1,01	0	12,11
12	12	50	6,57	1,64	0	12,52
13	12	80	15,69	1,74	8,74	5,72
14	12	80	10,64	2,12	9,68	5,77
15	12	99,98	68,51	36,2	31,48	63,79
16	12	99,98	68,9	43,55	31,09	56,44

Dari data yang didapatkan selama percobaan, dengan menggunakan software minitab, dilakukan uji normalitas terhadap data-data yang didapatkan seperti pada **Tabel IV.6.1**. Uji normalitas tersebut dapat digunakan untuk mengetahui apakah data yang dihasilkan tersebut sudah cukup bagus dan untuk meminimalisir nilai deviasi yang besar. Respon yang akan diuji normalitasnya adalah variabel *crude* ekstrak dan variabel konsentrasi methanol terhadap % recovery xanthone dan coumarin pada fraksi methanol dan heksane. Dari ketdua jenis

respon tersebut, dilakukan uji normalitas menggunakan minitab yang menghasilkan hasil sebagai berikut :



(a)

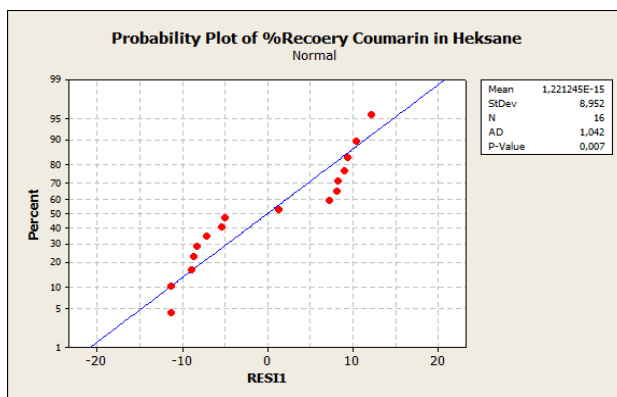


(b)

**Gambar IV.6.1** Uji Normalitas Respon % Recovery Coumarin (a) dan Xanthone (b) Terhadap Variabel *Crude* Ekstrak dan % Konsentrasi Methanol dalam Fraksi Methanol

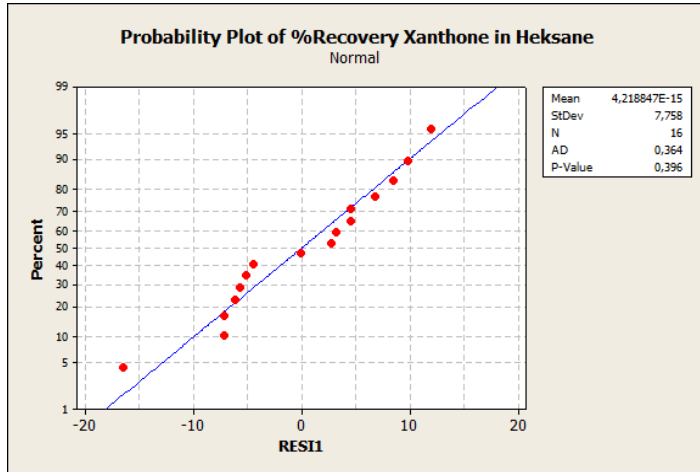
**Gambar IV.6.1** merupakan uji normalitas respon % recovery coumarin dan xanthone terhadap variabel crude ekstrak dan % konsentrasi methanol dalam fraksi methanol. Uji normalitas digunakan untuk mengetahui kenormalan penyebaran

data. Suatu data dapat dikatakan memiliki distribusi yang normal apabila data tersebut persebarannya mengikuti garis diagonal dan memiliki nilai P-Value  $>0,05$  (Warman, 2013). Dari **Gambar IV.6.1** (a) dan (b), dapat dilihat bahwa bahwa titik-titik data tersebar pada sekitar garis diagonal. Sebagian besar data menyebar mengikuti garis diagonal, dan beberapa data terlihat sedikit menyimpang dari garis diagonal. Untuk respon % recovery coumarin pada **Gambar IV.6.1** (a) didapatkan nilai P-Value sebesar 0,537 dan % recovery xanthone pada gambar (b) didapatkan nilai P-Value sebesar 0,029. Sehingga dapat disimpulkan bahwa untuk respon % recovery coumarin terhadap variabel *crude* ekstrak dan % konsentrasi methanol dalam fraksi methanol memiliki distribusi yang cukup normal karena nilai P-Value  $> 0,05$  dan memiliki titik tersebar mengikuti garis diagonal. Untuk respon % recovery xanthone memiliki distribusi data yang tidak normal karena nilai P-Value  $<0,05$  dan lebih banyak titik yang menyimpang dari garis diagonal sehingga nilai P-Value nya kecil.



(a)





(b)

**Gambar IV.6.2** Uji Normalitas Respon % Recovery Coumarin (a) dan Xanthone (b) Terhadap Variabel *Crude* Ekstrak dan % Konsentrasi Methanol dalam Fraksi Heksane

**Gambar IV.6.2** merupakan uji normalitas respon % recovery coumarin dan xanthone terhadap variabel crude ekstrak dan % konsentrasi methanol dalam fraksi heksane. Dari **Gambar IV.6.2** (a) dan (b), dapat dilihat bahwa titik-titik data tersebar pada sekitar garis diagonal. Sebagian besar data menyebar mengikuti garis diagonal, dan beberapa data terlihat sedikit menyimpang dari garis diagonal. Untuk respon % recovery coumarin pada **Gambar IV.6.2** (a) didapatkan nilai P-Value sebesar 0,007 dan % recovery xanthone pada gambar (b) didapatkan nilai P-Value sebesar 0,396. Sehingga dapat disimpulkan bahwa untuk respon % recovery coumarin terhadap variabel *crude* ekstrak dan % konsentrasi methanol dalam fraksi heksane memiliki distribusi yang tidak normal karena nilai P-Value  $< 0,05$  dan memiliki titik yang menyimpang dari garis diagonal. Untuk respon % recovery xanthone memiliki distribusi

data yang cukup normal karena nilai P-Value  $>0,05$  dan lebih banyak titik tersebar mengikuti garis diagonal.

Setelah menguji ke-normalan data-data yang dihasilkan pada percobaan, selanjutnya dengan menggunakan software yang sama dapat diketahui variabel-variabel yang memiliki pengaruh yang paling signifikan untuk setiap respon yang diberikan (*Analisa Of Variance*). Dalam analisa ini, P-Value dapat diaplikasikan untuk mengetahui pengaruh variabel yang paling signifikan terhadap respon yang diberikan. Apabila nilai P-Value  $< 0,05$ , maka hal tersebut mengindikasikan bahwa variabel tersebut memiliki pengaruh yang signifikan (Montgomery,2005).

**Tabel IV.6.2** ANOVA Pengaruh Variabel Terhadap % Recovery Coumarin dalam Fraksi Methanol

Source	DF	SS	MS	F	P
% Konsentrasi Methanol	3	8086,15	2695,38	17,86	0,000
Variabel Crude	1	32,80	32,80	0,22	0,650
Error	11	1659,78	150,89	-	-
Total	15	9778,73	-	-	-

**Tabel IV.6.3** ANOVA Pengaruh Variabel Terhadap % Recovery Xanthone dalam Fraksi Methanol

Source	DF	SS	MS	F	P
% Konsentrasi Methanol	3	5627,00	1875,67	44,48	0,000
Variabel Crude	1	416,93	416,93	9,89	0,009
Error	11	463,83	42,17	-	-
Total	15	6507,75	-	-	-

Analisa varian untuk pengaruh variabel crude ekstrak dan % konsentrasi methanol terhadap respon % recovery coumarin dan xanthone dalam fraksi methanol diringkaskan dalam **Tabel**

**IV.6.2** dan **Tabel IV.6.3**. Berdasarkan **Tabel IV.6.2** untuk respon % recovery coumarin dalam fraksi methanol, didapatkan hasil nilai P-value sebesar 0,650 terhadap variabel crude ekstrak dan memiliki nilai P-Value sebesar 0,000 terhadap variabel % konsentrasi methanol. Dari hasil tersebut, dapat dikatakan bahwa variabel % konsentrasi methanol yaitu methanol 20;50;80; dan 99,98% signifikan terhadap hasil % recovery coumarin pada fraksi methanol karena P-Value <0,05 dan tidak signifikan terhadap variabel crude ekstrak karena P-Value >0,05. Untuk respon % recovery xanthone pada **Tabel IV.6.3** didapatkan nilai P-Value sebesar 0,000 terhadap variabel konsentrasi methanol dan nilai P-Value sebesar 0,009 terhadap variabel crude ekstrak. Dari hasil tersebut, dapat dikatakan bahwa variabel % konsentrasi methanol yaitu methanol 20;50;80; dan 99,98% signifikan terhadap hasil % recovery xanthone pada fraksi methanol dan juga signifikan terhadap penggunaan variabel crude ekstrak 3000 dan 12000 mg karena P-Value <0,05.

**Tabel IV.6.4** ANOVA Pengaruh Variabel Terhadap % Recovery Coumarin dalam Fraksi Heksane

Source	DF	SS	MS	F	P
% Konsentrasi Methanol	3	3354,79	1118,26	10,23	0,002
Variabel Crude	1	494,28	494,28	4,52	0,057
Error	11	1202,06	109,28	-	-
Total	15	5051,13	-	-	-

**Tabel IV.6.5** ANOVA Pengaruh Variabel Terhadap % Recovery Xanthone dalam Fraksi Heksane

Source	DF	SS	MS	F	P
% Konsentrasi Methanol	3	4876,48	1625,49	19,81	0,000
Variabel Crude	1	6,45	6,45	0,08	0,784
Error	11	902,77	82,07	-	-
Total	15	5785,70	-	-	-

Analisa varian untuk pengaruh variabel crude ekstrak dan % konsentrasi methanol terhadap respon % recovery coumarin dan xanthone dalam fraksi heksane diringkas dalam **Tabel IV.6.4** dan **Tabel IV.6.5**. Berdasarkan **Tabel IV.6.4** untuk respon % recovery coumarin dalam fraksi methanol, didapatkan hasil nilai P-value sebesar 0,057 terhadap variabel crude ekstrak dan memiliki nilai P-Value sebesar 0,002 terhadap variabel % konsentrasi methanol. Dari hasil tersebut, dapat dikatakan bahwa variabel % konsentrasi methanol yaitu methanol 20;50;80; dan 99,98% signifikan terhadap hasil % recovery coumarin pada fraksi heksane karena P-Value <0,05 dan tidak signifikan terhadap variabel crude ekstrak karena P-Value >0,05. Untuk respon % recovery xanthone pada **Tabel IV.6.5** didapatkan nilai P-Value sebesar 0,000 terhadap variabel konsentrasi methanol dan nilai P-Value sebesar 0,784 terhadap variabel crude ekstrak. Dari hasil tersebut, dapat dikatakan bahwa variabel % konsentrasi methanol yaitu methanol 20;50;80; dan 99,98% signifikan terhadap hasil % recovery xanthone pada fraksi heksane dan tidak signifikan terhadap penggunaan variabel crude ekstrak 3000 dan 12000 mg karena P-Value >0,05. Dari hasil analisa varian tersebut dapat disimpulkan bahwa penggunaan variabel % konsentrasi methanol sebesar 20; 50; 80; dan 99,98% signifikan terhadap % recovery coumarin dan xanthone baik di fraksi methanol maupun fraksi heksane dan tidak signifikan terhadap variabel penggunaan crude ekstrak 3000 dan 12000 mg. Menurut Dailey (2015) kondisi optimum untuk ratio perbandingan crude ekstrak dan solven adalah 100:1.

**(Halaman ini sengaja di kosongkan)**

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **V.1 Kesimpulan**

Dari hasil penelitian dan hasil analisa yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Proses pemisahan xanthone dan coumarin yang terkandung dalam fraksi polar daun nyamplung dapat dilakukan dengan cara *Liquid-Liquid Extraction (LLE)* dengan berbagai variabel konsentrasi methanol.
2. Hasil terbaik untuk pemisahan xanthone dan coumarin pada variabel 3000 mg *crude* ekstrak daun nyamplung dengan perbandingan pelarut polar (methanol-air) 150 gr : pelarut non-polar (heksane) 150 gr adalah pada penggunaan konsentrasi methanol 50% dengan % total recovery coumarin pada fraksi methanol sebesar 81,18% dan % total recovery xanthone pada fraksi heksane sebesar 81,91% secara *multiple extraction* sebanyak 6 kali.
3. Dengan penggunaan kombinasi pelarut organik (methanol) dan air (50%:50%) terjadi pemisahan antara xanthone dan coumarin dibandingkan dengan penggunaan pelarut organik (methanol) 100%.

#### **V.2 Saran**

1. Mencari elternatif metode pemisahan yang lain untuk memisahkan senyawa xanthone dan coumarin yang terdapat dalam *crude* ekstrak daun nyamplung.
2. Mencari varibel yang tepat untuk konsentrasi methanol agar tidak terdapat fraksi solid dalam proses pemisahan.

**(Halaman ini sengaja dikosongkan)**

## DAFTAR PUSTAKA

- Adriana, D., dan Quan, V.V., 2015. Effect of Extraction Solvent on Recovery of Bioactive Compounds and Antioxidant Properties from Macadamia (*Macadamia tertaphylla*) Skin Waste. *Cogent Food & Agriculture*.1: 1115646
- Alegantina, Sukmayanti, dan Isnawati, Ani. 2010. Identifikasi dan Penetapan Kadar Senyawa Kumarin dalam Ekstrak Metanol *Artemisia Annua* L Secara Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. *Buletin Peneliti Kesehatan* Vol. 38 No.1, page 17-28
- Awale S., Tezuka Y., Ueda J.-Y, Tran Q.L., Kadota S., 2006. *Planta Med.* 72, 46
- Cechinel Filho, V., Junior, I.F.S., Zacchino, S.A., Lima, J.C.S., dan Martins, DTO., 2009. Antimicrobial Screening of Some Medicinal Plants from Mato Grosso Cerrado. *Brazilian Journal of Pharmacognory* 19 (1B): 242-248.
- Dweck, A.C., dan Meadows, T., 2002. Tamanu. *International Journal of Cosmetic Science* 2002, 24: 1-8.
- Effendy. 2006. Teori VSEPR, Kepolaran dan Gaya Antar Molekul. Bayumedia Publishing: p. 122-140.
- FDA. 2012. Guidance for industry. Retrieved September 28, 2015, from <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm073395.pdf>
- Fessenden, J.R., 1986. Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 1. Jakarta: Erlangga.
- Giesen, W. S. Wulffraat, M. Zierenand, dan L. Scholtex. 2007. Mangrove Guidebook for Southeast Asia, p. 221-222. FAO and Wetlands International, Bangkok. ISBN 974-7946-85-8.
- Heyne, K. 1987. "Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid 3". Jakarta. Departemen Kehutanan.



- H. Wang, G.J. Provan, K. Helliwell. 2004. Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. *Food Chem.* 87 . 307–311.
- Iskandari, A. 2010. Isolasi dan Elusidasi Struktur Quercetrin dari Daun Nyamplung. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Indrakumar, Isaviani., Selvi, V., Gomathi, R., Karpagam, S., 2012. Phytochemical Analysis of Leaf Extracts of *Calophyllum inophyllum* L. And *Cananga odorata* (Lam.) Hook. F. & Thomson. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences* Vol 3, 35-37.
- Jih-Jung Chen J.-J. Chen\*, (Ih-Sheng Chen) I.-S. Chen, (Chang-Yih Duh) C.Y Duh, 2004. Analysis of Herbal Products by Thin-layer Chromatography. *Planta Med.* **70**, 1195.
- Laure, F. 2008. Screening of Anti-HIV *Inophyllums* by HPLC-DAD of *Calophyllum inophyllum* Leaf Exctract From French Polynesia Islands. *Analytica Chimica Acta*, Vol 624, 147-153.
- Lim, T. K. 2012. “Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants”. New York : Springer.
- Ling, K.H., Kian, C.T., and Hoon, T.C., 2009. A Guide to Medicinal Plant. Singapore World Scientific.
- Murray, R.D.H., 1982. “The Natural Cumarins”. New York: John Willey and Sons.
- Ong, H.C. 2014. Optimization of Biodiesel Production and Engine Perfomance from High Free Fatty Acid *Calophyllum iniphyllum* Oil in CI diesel Engine. *Science Direct*. 30-40.
- Pawar, K. D. 2007. Pattern of Anti-HIV Dypyrancoumarin Expression in Callus Cultures of *Calophyllum inophyllum* Linn. *Journal of Biotechnology*. Vol 130, 346-353.
- Praveena, Rani, Swaroopa, Veeresham, 2013. Phytochemical Investigation of *Calophyllum inophyllum* Linn. *Natural Products Chemistry & Research*, Volume 1, Issue 4.

- Ramakhrisman, N. dan Malarvizhi, P. 2011. GC-MS Analysis of Biologically Active Compounds in Leaves of *Calophyllum inophyllum* L. International Journal of Chemtech Research. Vol 3 (2) , 806-809.
- Sadek, P. 2002. *The HPLC Solvent Guide*. United States of America: Wiley of Interscience
- Sudrajat. 2009. "A Potential Plant for Biodiesel". Indonesia : Departemen Kehutanan.
- Su, X.H., Zhang, M.L., Li, L.G., Huo, C.H., Gu, Y.C.2008. Chemical Constituent of The Plants of The Genus *Calophyllum*. Chemistry & Biodiversity (5), 2579-2608.
- Syukriah, N., Liza, M. S., Harisun, Y., dan Fadzillah, A. A. M. 2014. Effect of solvent extraction on antioxidant and antibacterial activities from *Quercus infectoria* (Manjakani). International Food Research Journal, 21(3): 1067-1073.
- Yanti, Aprilita Rina., Mudhahar, Harfia., dan Irawan, Ibnu. 2004. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Xanthone dari Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Sulatri (*Calophyllum soulattri* Burn.f). Jurnal Bahan Alam Indonesia Vol. 3 No.1, page 158-161.
- Yimdjo, M.C., Azebaze A.G., Nkengfack A.E., Meyer, A.M., Bodo, B., dan Fomum, Z.T., 2004. Antimicrobial and Cytotoxic Agents from *Calophyllum inophyllum*. Phytochemistry. 65: 2789-2795.
- Yunitasari, E.P., 2008. Pengaruh Jenis Solvent dan Variasi Tray pada Pengambilan Minyak Nyamplung dengan Metode Ekstraksi Kolom. Semarang: Universitas Diponegoro.

## APPENDIKS

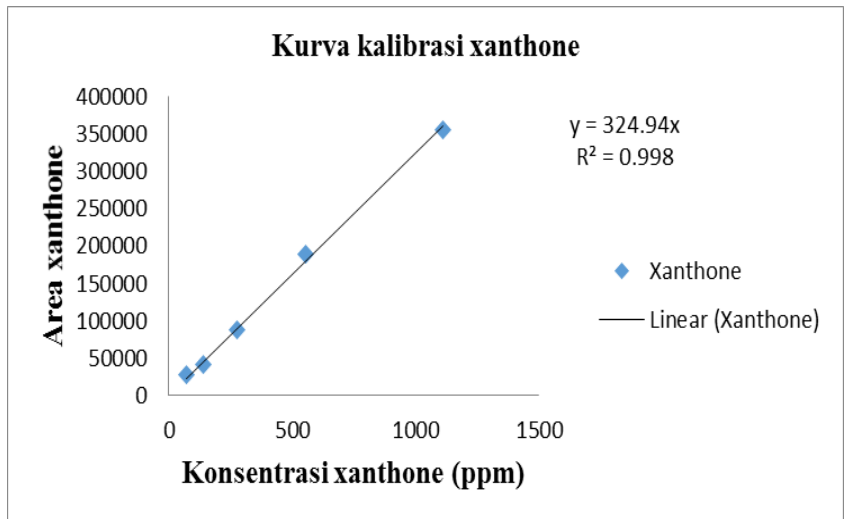
### A.1 Kurva Kalibrasi

Pengukuran area senyawa yang didapatkan dari hasil pembacaan dengan menggunakan *Gas Chromatography* (GC) dengan menggunakan senyawa standard dan pelarut Etil Asetat.

#### A.1.1 Xanthone

**Tabel A.1.1** Kalibrasi Xanthone

RT	C xanthone (mg/kg, ppm)	Area
12,211	69,290	21.270
12,211	138,5809	55.385
12,21	277,161	91.014,4
12,214	554,323	160.216,4
12,228	1108,647	428547,7

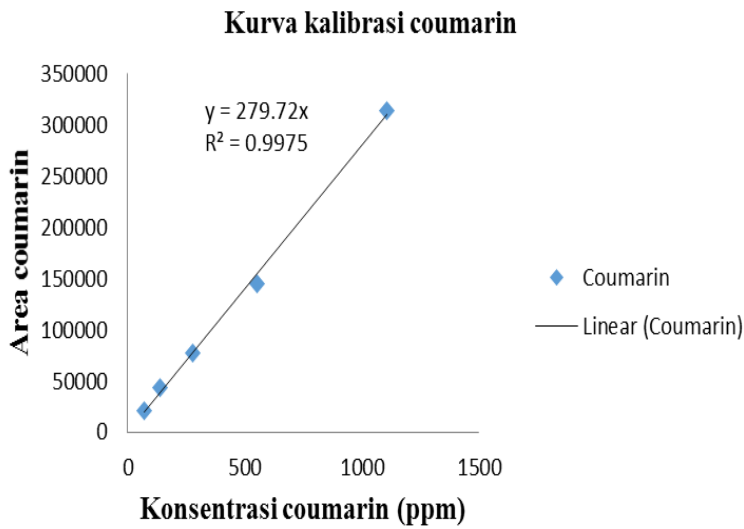


**Gambar A.1.1** Kurva Kalibrasi Xanthone

A.1.2 Coumarin

Tabel A.1.2 Kalibrasi Coumarin

RT	C kumarin (mg/kg, ppm)	Area
8,646	69,213	21.077,8
8,637	138,427	43.298,9
8,64	276,854	77.667,4
8,652	553,709	145.061
8,666	1.107,419	313.945,4



Gambar A.1.2 Kurva Kalibrasi Coumarin

## A.2 Perhitungan Konsentrasi

**Tabel A.2.1** Koefisien Kalibrasi

Komponen	RT	Koefisien w (Untuk GC)	R <sup>2</sup>
Kumarin	8,646	279,41	0,9975
Xanthone	12,211	324,94	0,998

### A.2.1 Xanthone

Dari kurva kalibrasi xanthone, didapatkan persamaan :  $y = 324,94 x$ , dimana  $y$  adalah area xanthone dan  $x$  adalah konsentrasi xanthone.

Untuk menghitung konsentrasi pada variabel 3 gram crude ekstrak dengan perbandingan pelarut polar : non polar = (150gram,50% metanol):150gram,,sebagai berikut :

Area xantone sampel dalam fraksi metanol= 9876,8, maka didapatkan konsentrasi xantone

$$y = 324,94x$$

$$9876,8 = 324,94x$$

$$x = 30,39 \text{ ppm}$$

Area xantone sampel dalam fraksi hexane=55746,3, maka didapatkan konsentrasi xantone

$$y = 324,94x$$

$$55746,3 = 324,94x$$

$$x = 171,55 \text{ ppm}$$

**Tabel A.2.1.1** Hasil Perhitungan Konsentrasi Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(20% Metanol) Pelarut Polar: 150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>20% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Xantone dalam fraksi Metanol	0,336	0,807	0,571
Xantone dalam fraksi Hexane	32,525	26,161	29,343

**Tabel A.2.1.2** Hasil Perhitungan Konsentrasi Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50% Metanol) Pelarut Polar: 150 gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>50% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Xantone dalam fraksi Metanol	30,395	16,187	23,291
Xantone dalam fraksi Hexane	171,558	138,87	155,214

**Tabel A.2.1.3** Hasil Perhitungan Konsentrasi Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(80% Metanol) Pelarut Polar: 150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>80% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Xantone dalam fraksi Metanol	6.272,2	17,718	3.144,959
Xantone dalam fraksi Hexane	55,506	43,312	49,409

**Tabel A.2.1.4** Hasil Perhitungan Konsentrasi Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(99,98%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>99,98% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Xantone dalam fraksi Metanol	19,326	16,99	18,158
Xantone dalam fraksi Hexane	14,366	14,736	14,551

**Tabel A.2.1.5** Hasil Perhitungan Konsentrasi Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

<b>Keterangan</b>	<b>50% Stage 1</b>			
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Run 3</b>	<b>Rata-rata</b>
Xantone dalam fraksi Metanol	3,779	6,823	7,605	6,069
Xantone dalam fraksi Hexane	59,858	65,417	61,239	62,171

**Tabel A.2.1.6** Hasil Perhitungan Konsentrasi Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

<b>Keterangan</b>	<b>50% Stage 2</b>			
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Run 3</b>	<b>Rata-rata</b>
Xantone dalam fraksi Metanol	6,057	9,803	7,040	7,63
Xantone dalam fraksi Hexane	70,750	67,139	83,113	73,667

**Tabel A.2.1.7** Hasil Perhitungan Konsentrasi Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

<b>Keterangan</b>	<b>50 Stage 3</b>			
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Run 3</b>	<b>Rata-rata</b>
Xantone dalam fraksi Metanol	6,216	8,929	7,524	7,555
Xantone dalam fraksi Hexane	38,043	50,950	13,192	34,061



**Tabel A.2.1.8** Hasil Perhitungan Konsentrasi Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

<b>Keterangan</b>	<b>50% stage 4</b>			
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Run 3</b>	<b>Rata-rata</b>
Xantone dalam fraksi Metanol	2,860	1,367	1,199	1,808
Xantone dalam fraksi Hexane	40,944	13,641	74,109	42,898

**Tabel A.2.1.9** Hasil Perhitungan Konsentrasi Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

<b>Keterangan</b>	<b>50% stage 5</b>			
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Run 3</b>	<b>Rata-rata</b>
Xantone dalam fraksi Metanol	4,262	1,899	2,190	8,351
Xantone dalam fraksi Hexane	14,854	16,413	169,334	66,867

### A.2.2 Coumarin

Dari kurva kalibrasi xanthone, didapatkan persamaan :  $y = 279,72 x$ , dimana y adalah area xanthone dan x adalah konsentrasi xanthone.

Untuk menghitung konsentrasi pada variabel 3 gram crude ekstrak dengan perbandingan pelarut polar : non polar = (150gram,50% metanol):150gram,,sebagai berikut :

Area coumarin sampel dalam fraksi metanol= 1669, maka didapatkan konsentrasi coumarin

$$y=279,72x$$

$$1669=279,72x$$

$$x=5,97\text{ppm}$$

Area coumarin sampel dalam fraksi hexane=20424,1, maka didapatkan konsentrasi coumarin

$$y=279,72x$$

$$20424,1=279,72x$$

$$x=73,09\text{ppm}$$

**Tabel A.2.2.1** Hasil Perhitungan Konsentrasi Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(20% Metanol) Pelarut Polar: 150gram Pelarut Non Polar

Keterangan	20% Metanol		
	Run 1	Run 2	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	2,800	3,379	3,089
Coumarin dalam fraksi Hexane	9,47	8,778	9,124

**Tabel A.2.2.2** Hasil Perhitungan Konsentrasi Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50% Metanol) Pelarut Polar: 150 gram Pelarut Non Polar

Keterangan	50% Metanol		
	Run 1	Run 2	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	5,973	10,411	8,192
Coumarin dalam fraksi Hexane	73,097	69,57	71,333

**Tabel A.2.2.3** Hasil Perhitungan Konsentrasi Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(80%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>80% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Coumarin dalam fraksi Metanol	13,856	11,742	12,799
Coumrin dalam fraksi Hexane	4,360	3,419	3,889

**Tabel A.2.2.4** Hasil Perhitungan Konsentrasi Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(99,98%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>99,98% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Coumarin dalam fraksi Metanol	12,124	7,922	10,023
Coumrin dalam fraksi Hexane	14,926	7,941	11,433

**Tabel A.2.2.5** Hasil Perhitungan Konsentrasi Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

<b>Keterangan</b>	<b>50% Stage 1</b>			
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Run 3</b>	<b>Rata-rata</b>
Coumarin dalam fraksi Metanol	4,908	8,526	10,259	7,897
Coumrin dalam fraksi Hexane	13,692	14,337	15,021	14,35

**Tabel A.2.2.6** Hasil Perhitungan Konsentrasi Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

<b>Keterangan</b>	<b>50% Stage 2</b>			
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Run 3</b>	<b>Rata-rata</b>
Coumarin dalam fraksi Metanol	10,027	13,393	13,080	12,166
Coumrin dalam fraksi Hexane	28,080	29,744	33,64	30,488

**Tabel A.2.2.7** Hasil Perhitungan Konsentrasi Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50 Stage 3			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	12,519	15,112	13,604	13,745
Coumrin dalam fraksi Hexane	14,946	27,659	22,133	21,579

**Tabel A.2.2.8** Hasil Perhitungan Konsentrasi Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% stage 4			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	7,586	4,164	2,463	4,737
Coumrin dalam fraksi Hexane	19,320	24,770	35,418	26,502

**Tabel A.2.2.9** Hasil Perhitungan Konsentrasi Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50% Metanol) Pelarut Polar: 150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% stage 5			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	2,668	1,277	0,730	1,558
Coumrin dalam fraksi Hexane	7,567	89,741	7,507	104,815

### A.3 Perhitungan Recovery Senyawa terhadap Crude Ekstrak

Proses distilasi yang dilakukan menggunakan temperature 68°C. Maka berdasarkan data perbedaan titik didih antara senyawa xanthone (349-350°C) dan coumarin (298°C) dengan methanol (68°C). Sehingga dapat disimpulkan tidak terdapat senyawa xanthone dan coumarin yang ikut ke dalam methanol pada saat dilakukan proses distilasi. Sehingga methanol setelah proses distilasi pun tidak diperhitungkan untuk perhitungan recovery.

#### A.3.1 Xanthone

Dari perhitungan sebelumnya didapatkan konsentrasi xantone dalam fraksi methanol dan fraksi hexane sebesar = 30,39 ppm(xantone dalam fraksi methanol) dan 171,55 ppm(xantone dalam fraksi hexane).

Massa methanol setelah diuapkan = 338.9 mg

Massa sampel = 21.4 mg

Massa Etil asetat = 902 mg, sehingga dapat dilakukan perhitungan ppm sampel

$$= \frac{\text{Massa sampe}}{\text{massa sampel} + \text{massa Etil aseta}} \times 1000000$$

$$= \frac{21.4}{(21.4+902)} \times 1000000$$

$$= 23175.222 \text{ ppm},$$

$$\% \text{ kadar xantone didapatkan dengan cara} = \frac{\text{ppm xantone}}{\text{ppm sampel}}$$

$$= \frac{30.39}{23175.222} = 0.131 \%$$

Sehingga massa komponen xantone didapatkan dengan cara :

$$= \% \text{ kadar xantone} \times \text{massa methanol setelah diuapkan}$$

$$= 0.131\% \times 338.9$$

$$= 0.444 \text{ mg}$$

Recovery xanthone :

$$= \frac{\text{masaa xantone dalam metanol}}{\text{massa xantone di crude ekstrak}} \times 100\%$$

$$= \frac{0.444}{5.88} \times 100$$

$$= 7.548\%$$

**Tabel A.3.1.1** Hasil Perhitungan Recovery Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(20% Metanol) Pelarut Polar: 150gram Pelarut Non Polar

Keterangan	20% Metanol		
	Run 1	Run 2	Rata-rata
Xantone dalam fraksi Metanol	0,0400%	0,096%	0,068%
Xantone dalam fraksi Hexane	3,7040%	2,979%	3,3415%
Xantone dalam fraksi Solid	96,2560%	96,92%	96,588%

**Tabel A.3.1.2** Hasil Perhitungan Recovery Xanthone 3  
gram Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(50% Metanol) Pelarut  
Polar: 150 gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>50% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Xanthone dalam fraksi Metanol	7,5489%	4,02%	5,784%
Xanthone dalam fraksi Hexane	27,9735%	22,64%	25,306%
Xanthone dalam fraksi Solid	64,4776%	73,33%	68,903%

**Tabel A.3.1.3** Hasil Perhitungan Recovery Xanthone 3  
gram Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(80% Metanol) Pelarut  
Polar: 150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>80% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Xanthone dalam fraksi Metanol	24,3757%	22,375%	23,375%
Xanthone dalam fraksi Hexane	23,9626%	18,698%	21,3303%
Xanthone dalam fraksi Solid	51,6617%	58,92%	55,290%



**Tabel A.3.1.4** Hasil Perhitungan Recovery Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(99,98%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>99,98% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Xanthone dalam fraksi Metanol	15,0781%	46,88%	30,979%
Xanthone dalam fraksi Hexane	8,7462%	56,71%	32,728%
Xanthone dalam fraksi Solid	-	-	-

**Tabel A.3.1.5** Hasil Perhitungan Recovery Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

<b>Keterangan</b>	<b>50% Stage 1</b>			
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Run 3</b>	<b>Rata-rata</b>
Xanthone dalam fraksi Metanol	1,155%	2,085%	2,324%	1,854%
Xanthone dalam fraksi Hexane	12,872%	14,067%	13,169%	13,369%
Xanthone dalam fraksi Solid	85,972%	-	-	85,972%

**Tabel A.3.1.6** Hasil Perhitungan Recovery Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% Stage 2			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	1,474%	2,386%	1,713%	1,857%
Xanthone dalam fraksi Hexane	47,781%	45,342%	56,130%	49,751%
Xanthone dalam fraksi Solid	47,793%	-	-	47,793%

**Tabel A.3.1.7** Hasil Perhitungan Recovery Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50 Stage 3			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	2,623%	3,767%	3,175%	3,188%
Xanthone dalam fraksi Hexane	13,783%	18,459%	4,779%	12,340%
Xanthone dalam fraksi Solid	69,012%	-	-	69,012%

**Tabel A.3.1.8** Hasil Perhitungan Recovery Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% stage 4			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	1,467%	0,701%	0,615%	0,927%
Xanthone dalam fraksi Hexane	26,883%	8,956%	48,659%	28,166%
Xanthone dalam fraksi Solid	71,649%	-	-	71,649%

**Tabel A.3.1.9** Hasil Perhitungan Recovery Xanthone 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% stage 5			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	1,434%	0,424%	0,489%	0,782%
Xanthone dalam fraksi Hexane	21,541%	11,979%	45,805%	26,441%
Xanthone dalam fraksi Solid	87,033%	-	-	87,033%

### A.3.2 Coumarin

Dari perhitungan sebelumnya didapatkan konsentrasi coumarin dalam fraksi methanol dan fraksi hexane sebesar = 5.97 ppm(coumarin dalam fraksi methanol) dan 73.09 ppm(coumarin dalam fraksi hexane).

Massa methanol setelah diuapkan = 338.9 mg

Massa sampel = 21.4 mg

Massa Etil asetat = 902 mg, sehingga dapat dilakukan perhitungan ppm sampel

$$= \frac{\text{Massa sampel}}{\text{massa sampel} + \text{massa Etil asetat}} \times 1000000$$

$$= \frac{21.4}{(21.4 + 902)} \times 1000000$$

$$= 23175.222 \text{ ppm},$$

$$\% \text{ kadar coumarin didapatkan dengan cara} = \frac{\text{ppm coumarin}}{\text{ppm sampel}}$$

$$= \frac{5.973}{23175.222} = 0.0258 \%$$

Sehingga massa komponen coumarin didapatkan dengan cara :

$$= \% \text{ kadar xantone} \times \text{massa methanol setelah diuapkan}$$

$$= 0.0258\% \times 338.9$$

$$= 0.087$$

Recovery xanthone :

$$= \frac{\text{masaa coumarin dalam metanol}}{\text{massa coumarin di crude ekstrak}} \times 100\%$$

$$= \frac{0.087}{2.030} \times 100$$

$$= 4.302\%$$

**Tabel A.3.2.1** Hasil Perhitungan Recovery Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(20%Metanol) Pelarut Polar: 150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>20% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Coumarin dalam fraksi Metanol	0,965%	1,164%	1,0645%
Coumarin dalam fraksi Hexane	3,128%	2,899%	3,0135%
Coumarin dalam fraksi Solid	95,9061%	95,93%	95,918%

**Tabel A.3.2.2** Hasil Perhitungan Recovery Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar: 150 gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>50% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Coumarin dalam fraksi Metanol	4,302%	7,49%	5,896%
Coumarin dalam fraksi Hexane	34,565%	32,90%	33,732%
Coumarin dalam fraksi Solid	61,132%	59,60%	60,366

**Tabel A.3.2.3** Hasil Perhitungan Recovery Coumarin 3  
gram Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(80% Metanol) Pelarut  
Polar: 150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>80% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Coumarin dalam fraksi Metanol	50,746%	43,005%	46,875%
Coumarin dalam fraksi Hexane	5,459%	4,281%	4,87%
Coumarin dalam fraksi Solid	43,794%	52,73%	48,262%

**Tabel A.3.2.4** Hasil Perhitungan Recovery Coumarin 3  
gram Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(99,98% Metanol) Pelarut  
Polar: 150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>99,98% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Couamrin dalam fraksi Metanol	27,431%	43,29%	35,360%
Coumarin dalam fraksi Hexane	26,353%	53,12%	39,736%
Coumarin dalam fraksi Solid	-	-	-

**Tabel A.3.2.5** Hasil Perhitungan Recovery Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% Stage 1			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	4,589%	7,972%	9,593%	7,384%
Coumarin dalam fraksi Hexane	9,006%	9,430%	9,880%	9,438%
Coumarin dalam fraksi Solid	86,403%	-	-	86,403%

**Tabel A.3.2.6** Hasil Perhitungan Recovery Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% Stage 2			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	7,114%	9,501%	9,279%	8,631%
Coumarin dalam fraksi Hexane	55,276%	58,552%	66,184%	60,004%
Coumarin dalam fraksi Solid	37,609%	-	-	37,609%

**Tabel A.3.2.7** Hasil Perhitungan Recovery Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50% Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

<b>Keterangan</b>	<b>50 Stage 3</b>			
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Run 3</b>	<b>Rata-rata</b>
Coumarin dalam fraksi Metanol	9,165%	11,064%	9,959%	10,062%
Coumarin dalam fraksi Hexane	9,395%	17,386%	13,912%	13,564%
Coumarin dalam fraksi Solid	81,439%	-	-	81,439%

**Tabel A.3.1.8** Hasil Perhitungan Recovery Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50% Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

<b>Keterangan</b>	<b>50% stage 4</b>			
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Run 3</b>	<b>Rata-rata</b>
Coumarin dalam fraksi Metanol	6,753%	3,707%	2,192%	4,217%
Coumarin dalam fraksi Hexane	22,009%	28,217%	40,348%	30.191%
Coumarin dalam fraksi Solid	71,236%	-	-	71,236%



**Tabel A.3.2.9** Hasil Perhitungan Recovery Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(50% Metanol) Pelarut Polar: 150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% stage 5			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	3,064%	0,745%	0,426%	1,411%
Coumarin dalam fraksi Hexane	14,766%	17,514%	14,651 %	15,643%
Coumarin dalam fraksi Solid	82,169%	-	-	82,169%

#### A.4 Perhitungan Kadar Senyawa Tiap Fraksi

##### A.4.1 Xanthone

Untuk menghitung kadar xanthone dalam fraksi methanol dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

Massa methanol setelah diuapkan = 338,9 mg

Massa xanthone dalam fraksi methanol = 0.444 mg

Kadar xanthone dalam fraksi methanol

$$= \frac{\text{Massa xanthone dalam fraksi methanol}}{\text{Massa methanol setelah di uapkan}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,444}{338,9} \times 100\%$$

$$= 0,131\%$$

**Tabel A.4.1.1** Hasil Perhitungan Kadar Xanthone 3 gram  
Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(20% Metanol) Pelarut  
Polar: 150gram Pelarut Non Polar

Keterangan	20% Metanol		
	Run 1	Run 2	Rata-rata
Xantone dalam fraksi Metanol	0,0014%	0,0032%	0,0023%
Xantone dalam fraksi Hexane	3,7040%	0,107%	1,9055%

**Tabel A.4.1.2** Hasil Perhitungan Kadar Xanthone 3 gram  
Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(50% Metanol) Pelarut  
Polar: 150 gram Pelarut Non Polar

Keterangan	50% Metanol		
	Run 1	Run 2	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	0,131%	0,069%	0,1%
Xanthone dalam fraksi Hexane	0,695%	0,563%	0,629%

**Tabel A.4.1.3** Hasil Perhitungan Kadar Xanthone 3 gram  
Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(80% Metanol) Pelarut  
Polar: 150gram Pelarut Non Polar

Keterangan	80% Metanol		
	Run 1	Run 2	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	0,079%	0,0731%	0,076%
Xanthone dalam fraksi Hexane	0,269%	0,209%	0,239%

**Tabel A.4.1.4** Hasil Perhitungan Kadar Xanthone 3 gram  
Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(99,98%Metanol) Pelarut  
Polar:150gram Pelarut Non Polar

Keterangan	99,98% Metanol		
	Run 1	Run 2	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	0,066%	0,0587%	0,062%
Xanthone dalam fraksi Hexane	8,746%	0,053%	8,799%

**Tabel A.4.1.5** Hasil Perhitungan Kadar Xanthone 3 gram  
Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(50%Metanol) Pelarut  
Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi  
Lanjutan )

Keterangan	50% Stage 1			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	0,018%	0,033%	0,036%	0,029%
Xanthone dalam fraksi Hexane	0,231%	0,252%	0,236%	0,239%

**Tabel A.4.1.6** Hasil Perhitungan Kadar Xanthone 3 gram  
Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(50% Metanol) Pelarut  
Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi  
Lanjutan )

Keterangan	50% Stage 2			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	0,022%	0,035%	0,025%	0,027%
Xanthone dalam fraksi Hexane	0,249%	0,237%	56,130%	18,872%

**Tabel A.3.1.7** Hasil Perhitungan Recovery Xanthone 3  
gram Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(50% Metanol) Pelarut  
Polar:150gram Pelarut Non Polar  
(Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50 Stage 3			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	0,024%	0,034%	0,029%	0,029%
Xanthone dalam fraksi Hexane	0,146%	0,196%	0,050%	0,130%

**Tabel A.4.1.8** Hasil Perhitungan Kadar Xanthone 3 gram  
 Crude Ekstrak Perbandingan  
 150gram(50% Metanol) Pelarut  
 Polar:150gram Pelarut Non Polar  
 (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% stage 4			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	0,011%	0,005%	0,004%	0,006%
Xanthone dalam fraksi Hexane	0,158%	0,052%	0,285%	0,165%

**Tabel A.4.1.9** Hasil Perhitungan Kadar Xanthone 3 gram  
 Crude Ekstrak Perbandingan  
 150gram(50% Metanol) Pelarut  
 Polar:150gram Pelarut Non Polar  
 (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% stage 5			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Xanthone dalam fraksi Metanol	0,016%	0,007%	0,008%	0,010%
Xanthone dalam fraksi Hexane	0,057%	0,061%	0,236%	0,118%

#### A.4.2 Coumarin

Untuk menghitung kadar Coumarin dalam fraksi methanol dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

Massa methanol setelah diuapkan = 338,9 mg

Massa coumarin dalam fraksi methanol = 0,087 mg

Kadar xanthone dalam fraksi methanol

$$= \frac{\text{Massa coumarin dalam fraksi methanol}}{\text{Massa methanol setelah di uapkan}} \times 100\%$$

$$= \frac{0.087}{338.9} \times 100\% \\ = 0,0258\%$$

**Tabel A.4.2.1** Hasil Perhitungan Kadar Coumarin 3 gram  
Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(20% Metanol) Pelarut  
Polar:150gram Pelarut Non Polar

Keterangan	20% Metanol		
	Run 1	Run 2	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	0,011%	0,013%	0,012%
Coumarin dalam fraksi Hexane	0,038%	0,035%	0,036%

**Tabel A.4.2.2** Hasil Perhitungan Recovery Coumarin 3 gram  
Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(50% Metanol) Pelarut  
Polar:150 gram Pelarut Non Polar

Keterangan	50% Metanol		
	Run 1	Run 2	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	0,0258%	0,044%	0,0349%
Coumarin dalam fraksi Hexane	0,2965%	0,282%	0,289%

**Tabel A.3.2.3** Hasil Perhitungan Recovery Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(80%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>80% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Coumarin dalam fraksi Metanol	0,057%	0,048%	0,052%
Coumarin dalam fraksi Hexane	0,021%	0,016%	0,018%

**Tabel A.4.2.4** Hasil Perhitungan Kadar Coumarin 3 gram Crude Ekstrak Perbandingan 150gram(99,98%Metanol) Pelarut Polar:150gram Pelarut Non Polar

<b>Keterangan</b>	<b>99,98% Metanol</b>		
	<b>Run 1</b>	<b>Run 2</b>	<b>Rata-rata</b>
Couamrin dalam fraksi Metanol	0,0419%	0,0274%	0,035%
Coumarin dalam fraksi Hexane	0,0537%	0,028%	0,040%

**Tabel A.4.2.5** Hasil Perhitungan Kadar Coumarin 3 gram  
Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(50% Metanol) Pelarut  
Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi  
Lanjutan )

Keterangan	50% Stage 1			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	0,023%	0,041%	0,049%	0,037%
Coumarin dalam fraksi Hexane	0,053%	0,055%	0,058%	0,055%

**Tabel A.4.2.6** Hasil Perhitungan Kadar Coumarin 3 gram  
Crude Ekstrak Perbandingan  
150gram(50% Metanol) Pelarut  
Polar:150gram Pelarut Non Polar (Ekstraksi  
Lanjutan )

Keterangan	50% Stage 2			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	0,036%	0,048%	0,047%	0,043%
Coumarin dalam fraksi Hexane	0,099%	0,105%	0,118%	0,107%



**Tabel A.4.2.7** Hasil Perhitungan Kadar Coumarin 3 gram  
 Crude Ekstrak Perbandingan  
 150gram(50% Metanol) Pelarut  
 Polar:150gram Pelarut Non Polar  
 (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50 Stage 3			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	0,048%	0,058%	0,052%	0,052%
Coumarin dalam fraksi Hexane	0,057%	0,106%	0,085%	0,082%

**Tabel A.4.1.8** Hasil Perhitungan Kadar Coumarin 3 gram  
 Crude Ekstrak Perbandingan  
 150gram(50% Metanol) Pelarut  
 Polar:150gram Pelarut Non Polar  
 (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% stage 4			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	0,029%	0,016%	0,009%	0,018%
Coumarin dalam fraksi Hexane	0,074%	0,095%	0,136%	0,101%

**Tabel A.4.2.9** Hasil Perhitungan Kadar Coumarin 3 gram  
 Crude Ekstrak Perbandingan  
 150gram(50% Metanol) Pelarut  
 Polar:150gram Pelarut Non Polar  
 (Ekstraksi Lanjutan )

Keterangan	50% stage 5			
	Run 1	Run 2	Run 3	Rata-rata
Coumarin dalam fraksi Metanol	0,010%	0,004%	0,002%	0,005%
Coumarin dalam fraksi Hexane	0,029%	0,034%	0,029%	0,030%

#### A.4 Perhitungan Yield Crude Ekstrak Terhadap Daun Kering

$$\begin{aligned} \text{yield 1} &= \frac{\text{berat crude ekstrak}}{\text{berat daun kering}} \\ &= \frac{3,86+3,509+2,136}{500 \text{ gr}} \\ &= 0,0180 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{yield 2} &= \frac{\text{berat crude ekstrak}}{\text{berat daun kering}} \\ &= \frac{3,091+2,64+2,211}{500 \text{ gr}} \\ &= 0,0158 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Average yield} &= \frac{\text{yield 1}+\text{yield 2}}{2} \\ &= \frac{0,018+0,0158}{2} \\ &= 0,0169 \end{aligned}$$

## RIWAYAT PENULIS I



Penulis bernama Agustina Borhet dilahirkan di Kota Tulungagung tanggal 25 Agustus 1992, merupakan anak ke 1 dari 2 bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan yaitu : SD Negeri Kampungdalem 1 Tulungagung, SMP Negeri 1 Tulungagung, SMA Negeri 1 Kauman Tulungagung, dan D3 Teknik Kimia FTI-ITS. Setelah lulus dari D3, penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Strata 1 (S1) jurusan Teknik Kimia FTI-ITS. Pada akhir masa studi, penulis mengerjakan Tugas Pra Desain Pabrik Tepung Ikan. Penulis melakukan Tugas Akhir di Laboratorium Teknologi Biokimia di bawah bimbingan Bapak Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D dan Bapak Hakun Wirawasista Aparamarta, S.T., Ph.D. Dengan penulisan skripsi ini, penulis berharap agar buku skripsi ini bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi. Untuk menghubungi penulis dapat melalui email berikut : [agustinaborhet@yahoo.com](mailto:agustinaborhet@yahoo.com)

## RIWAYAT PENULIS II



Penulis bernama Zulfira Tri Lutfiani dilahirkan di Kota Ponorogo tanggal 30 April 1992, merupakan anak ke 3 dari 4 bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan yaitu : SD Negeri Patihan Wetan Ponorogo, SMP Negeri 6 Ponorogo, SMA Negeri 1 Ponorogo, dan D3 Teknik Kimia FTI-ITS. Setelah lulus dari D3, penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Strata 1 (S1) jurusan Teknik Kimia FTI-ITS. Pada akhir masa studi, penulis mengerjakan Tugas Pra Desain Pabrik Tepung Ikan. Penulis melakukan Tugas Akhir di Laboratorium Teknologi Biokimia di bawah bimbingan Bapak Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D dan Bapak Hakun Wirawasista Aparamarta, S.T., Ph.D. Dengan penulisan skripsi ini, penulis berharap agar buku skripsi ini bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi. Untuk menghubungi penulis dapat melalui email berikut : [zulfiralutfiani@gmail.com](mailto:zulfiralutfiani@gmail.com)